

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

NOTICE INFORMING THE APPLICANT OF THE COMMUNICATION OF THE INTERNATIONAL APPLICATION TO THE DESIGNATED OFFICES

(PCT Rule 47.1(c), first sentence)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

ISHIDA, Takashi
A. Aoki & Associates
Toranomon 37 Mori Building
5-1, Toranomon 3-chome
Minato-ku
Tokyo 105-8423
JAPON

115



| | | | |
|---|---|---|--|
| Date of mailing (day/month/year) 04 February 1999 (04.02.99) | | IMPORTANT NOTICE | |
| Applicant's or agent's file reference F846-PCT | | | |
| International application No. PCT/JP98/03199 | International filing date (day/month/year) 16 July 1998 (16.07.98) | Priority date (day/month/year) 25 July 1997 (25.07.97) | |
| Applicant SUNTORY LIMITED et al | | | |

1. Notice is hereby given that the International Bureau has communicated, as provided in Article 20, the international application to the following designated Offices on the date indicated above as the date of mailing of this Notice:

AU,CN,EP,JP,KR,US

In accordance with Rule 47.1(c), third sentence, those Offices will accept the present Notice as conclusive evidence that the communication of the international application has duly taken place on the date of mailing indicated above and no copy of the international application is required to be furnished by the applicant to the designated Office(s).

2. The following designated Offices have waived the requirement for such a communication at this time:

CA,NZ

The communication will be made to those Offices only upon their request. Furthermore, those Offices do not require the applicant to furnish a copy of the international application (Rule 49.1(a-bis)).

3. Enclosed with this Notice is a copy of the international application as published by the International Bureau on

04 February 1999 (04.02.99) under No. WO 99/05287

REMINDER REGARDING CHAPTER II (Article 31(2)(a) and Rule 54.2)

If the applicant wishes to postpone entry into the national phase until 30 months (or later in some Offices) from the priority date, a demand for international preliminary examination must be filed with the competent International Preliminary Examining Authority before the expiration of 19 months from the priority date.

It is the applicant's sole responsibility to monitor the 19-month time limit.

Note that only an applicant who is a national or resident of a PCT Contracting State which is bound by Chapter II has the right to file a demand for international preliminary examination.

REMINDER REGARDING ENTRY INTO THE NATIONAL PHASE (Article 22 or 39(1))

If the applicant wishes to proceed with the international application in the national phase, he must, within 20 months or 30 months, or later in some Offices, perform the acts referred to therein before each designated or elected Office.

For further important information on the time limits and acts to be performed for entering the national phase, see the Annex to Form PCT/IB/301 (Notification of Receipt of Record Copy) and Volume II of the PCT Applicant's Guide.

| | |
|---|---------------------------------|
| The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland | Authorized officer J. Zahra |
| Facsimile No. (41-22) 740.14.35 | Telephone No. (41-22) 338.83.38 |



PCT

特許協力条約に基づいて公開された国際出願

| | | |
|---|-----------|--|
| <p>(51) 国際特許分類6 C12N 15/54, 9/10, A01H 1/00</p> | <p>A1</p> | <p>(11) 国際公開番号 WO99/05287</p> <p>(43) 国際公開日 1999年2月4日(04.02.99)</p> |
| <p>(21) 国際出願番号 PCT/JP98/03199</p> <p>(22) 国際出願日 1998年7月16日(16.07.98)</p> <p>(30) 優先権データ 特願平9/200571 1997年7月25日(25.07.97) JP</p> <p>(71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) サントリー株式会社(SUNTORY LIMITED)[JP/JP] 〒530-8203 大阪府大阪市北区堂島浜2丁目1番40号 Osaka, (JP)</p> <p>(72) 発明者 ; および</p> <p>(75) 発明者 / 出願人 (米国についてのみ)</p> <p>水谷正子(MIZUTANI, Masako)[JP/JP] 〒615-8083 京都府京都市西京区桂良町18-21 Kyoto, (JP)</p> <p>田中良和(TANAKA, Yoshikazu)[JP/JP] 〒520-0246 滋賀県大津市仰木の里2-7-4 Shiga, (JP)</p> <p>久住高章(KUSUMI, Takaaki)[JP/JP] 〒564-0073 大阪府吹田市山手町2-12-21-402 Osaka, (JP)</p> <p>斉藤和季(SAITO, Kazuki)[JP/JP] 〒289-1106 千葉県八街市榎戸663-86 Chiba, (JP)</p> <p>山崎真巳(YAMAZAKI, Mami)[JP/JP] 〒260-0045 千葉県千葉市中央区弁天4-12-6 Chiba, (JP)</p> | | <p>鞏 志忠(GONG, Zhizhong)[CN/JP] 〒263-0031 千葉県千葉市稲毛区稲毛東3丁目12番5号 並木コーポ201 Chiba, (JP)</p> <p>(74) 代理人 弁理士 石田 敬, 外(ISHIDA, Takashi et al.) 〒105-8423 東京都港区虎ノ門三丁目5番1号 虎ノ門37森ビル 青和特許法律事務所 Tokyo, (JP)</p> <p>(81) 指定国 AU, CA, CN, JP, KR, NZ, US, 欧州特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).</p> <p>添付公開書類 国際調査報告書</p> |
| <p>(54)Title: GENES ENCODING PROTEINS HAVING TRANSGLYCOSYLATION ACTIVITY</p> <p>(54)発明の名称 糖転移活性を有する蛋白質をコードする遺伝子</p> <p>(57) Abstract Genes encoding proteins each having an amino acid sequence represented by any of SEQ ID NOS: 7 to 10 and 12 and showing the activity of transferring a glycosyl group to the 5-position of a flavonoid; genes encoding proteins each having an amino acid sequence derived from any of the above amino acid sequences by modification and showing the activity of transferring a glycosyl group to the 5-position of a flavonoid; and a process for producing the above proteins with the use of these genes. These genes are usable in, for example, artificially improving plant colors.</p> | | |

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP98/03199

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl.⁶ C12N15/54, C12N9/10, A01H1/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl.⁶ C12N15/54, C12N9/10, A01H1/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

SwissProt/PIR/GeneSeq

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|-----------|---|-----------------------|
| A | EP, 771878, A1 (PLANT GENETIC SYSTEMS NV), 7 May, 1997 (07. 05. 97) & WO, 97/16559, A1 | 1-11 |
| A | Science. Vol. 265 (1994) Szerszen, J.B et al., "iaglu, a gene from Zea mays involeved in conjugation of growth hormone indole-3-acetic acid." p.1699-1701 | 1-11 |
| A | WO, 96/00291, A1 (RESEARCH CORP TECHNOLOGIES INC.), 4 January, 1996 (04. 01. 96) | 1-11 |

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
18 September, 1998 (18. 09. 98)Date of mailing of the international search report
29 September, 1998 (29. 09. 98)Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

PCT

EP

US

国際調査報告

(法8条、法施行規則第40、41条)
[PCT18条、PCT規則43、44]

| | | |
|----------------------------|---|-------------------------|
| 出願人又は代理人 の書類記号 F846-PCT | 今後の手続きについては、国際調査報告の送付通知様式(PCT/ISA/220) 及び下記5を参照すること。 | |
| 国際出願番号 PCT/JP98/03199 | 国際出願日 (日.月.年) 16.07.98 | 優先日 (日.月.年) 25.07.97 |
| 出願人(氏名又は名称) サントリー株式会社 | | |

国際調査機関が作成したこの国際調査報告を法施行規則第41条(PCT18条)の規定に従い出願人に送付する。
この写しは国際事務局にも送付される。

この国際調査報告は、全部で 2 ページである。

☐ この調査報告に引用された先行技術文献の写しも添付されている。

1. ☐ 請求の範囲の一部の調査ができない(第I欄参照)。

2. ☐ 発明の単一性が欠如している(第II欄参照)。

3. ☒ この国際出願は、ヌクレオチド及び/又はアミノ酸配列リストを含んでおり、次の配列リストに基づき国際調査を行った。

☐ この国際出願と共に提出されたもの

☒ 出願人がこの国際出願とは別に提出したもの

☐ しかし、出願時の国際出願の開示の範囲を越える事項を含まない旨を記載した書面が添付されていない

☐ この国際調査機関が書換えたもの

4. 発明の名称は ☒ 出願人が提出したものを承認する。
☐ 次に示すように国際調査機関が作成した。

5. 要約は ☒ 出願人が提出したものを承認する。
☐ 第III欄に示されているように、法施行規則第47条(PCT規則38.2(b))の規定により国際調査機関が作成した。出願人は、この国際調査報告の発送の日から1カ月以内にこの国際調査機関に意見を提出することができる。

6. 要約書とともに公表される図は、
第 _____ 図とする。 ☐ 出願人が示したとおりである。 ☒ なし
☐ 出願人は図を示さなかった。
☐ 本図は発明の特徴を一層よく表している。

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁶ C12N15/54, C12N9/10, A01H1/00

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁶ C12N15/54, C12N9/10, A01H1/00

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用了電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

SwissProt/PIR/GeneSeq

C. 関連すると認められる文献

| 引用文献の カテゴリー* | 引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示 | 関連する 請求の範囲の番号 |
|-----------------|--|------------------|
| A | EP, 771878, A1 (PLANT GENETIC SYSTEMS NV) 7. 5月. 1997 (07. 05. 97) & WO, 97/16559, A1 | 1-11 |
| A | Science, vol. 265 (1994) Szerszen, J. B et al. 「iaglu, a gene from Zea mays involeved in conjugation of growth hormone indole-3-acetic acid.」 p. 1699-1701 | 1-11 |
| A | WO, 96/00291, A1 (RESEARCH CORP TECHNOLOGIES INC.) 4. 1月. 1996 (04. 01. 96) | 1-11 |

☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」 先行文献ではあるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

18. 09. 98

国際調査報告の発送日

29.09.98

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

新見 浩一

4B


9162

電話番号 03-3581-1101 内線 3448

特許協力条約に基づく国際出願

願 書

出願人は、この国際出願が特許協力条約に従って処理されることを請求する。

| | |
|--------|--|
| 国際出願番号 |  |
| 国際出願日 | |
| (受付印) | |

出願人又は代理人の書類記号 (希望する場合、最大12字) F 8 4 6 - P C T

第 I 欄 発明の名称

糖転移活性を有する蛋白質をコードする遺伝子

第 II 欄 出願人

氏名 (名称) 及びあて名: (姓・名の順に記載; 法人は公式の完全な名称を記載; あて名は郵便番号及び国名も記載)

サントリー株式会社

SUNTORY LIMITED

〒530-8203 日本国大阪府大阪市北区堂島浜2丁目1番40号

1-40, Dojimahama 2-chome, Kita-ku, Osaka-shi, OSAKA 530-8203 JAPAN

☐ この欄に記載した者は、
発明者でもある。

電話番号:

ファクシミリ番号:

加入電信番号:

国籍 (国名): 日本国 JAPAN

住所 (国名): 日本国 JAPAN

この欄に記載した者は、次の
指定国について出願人である:

☐ すべての指定国

☒ 米国を除くすべての指定国

☐ 米国のみ

☐ 追記欄に記載した指定国

第 III 欄 その他の出願人又は発明者

氏名 (名称) 及びあて名: (姓・名の順に記載; 法人は公式の完全な名称を記載; あて名は郵便番号及び国名も記載)

水 谷 正 子 MIZUTANI Masako

〒615-8083 日本国京都府京都市西京区桂民町18-21

18-21, Katsuraushitora-cho, Nishikyo-ku, Kyoto-shi,
KYOTO 615-8083 JAPAN

この欄に記載した者は
次に該当する:

☐ 出願人のみである。

☒ 出願人及び発明者である。

☐ 発明者のみである。
(ここにレ印を付したとき
は、以下に記入しないこと)

国籍 (国名): 日本国 JAPAN

住所 (国名): 日本国 JAPAN

この欄に記載した者は、次の
指定国について出願人である:

☐ すべての指定国

☐ 米国を除くすべての指定国

☒ 米国のみ

☐ 追記欄に記載した指定国

☒ その他の出願人又は発明者が続票に記載されている。

第 IV 欄 代理人又は共通の代表者、通知のあて名

次に記載された者は、国際機関において出願人のために行動する:

☒ 代理人

☐ 共通の代表者

氏名 (名称) 及びあて名: (姓・名の順に記載; 法人は公式の完全な名称を記載; あて名は郵便番号及び国名も記載)

弁理士 (7751) 石 田 敬 ISHIDA Takashi

〒105-8423 日本国東京都港区虎ノ門三丁目5番1号

虎ノ門37森ビル 青和特許法律事務所

A. AOKI & ASSOCIATES

Toranomon 37 Mori Bldg., 5-1, Toranomon 3-chome, Minato-ku,

TOKYO 105-8423 JAPAN

電話番号:

03-5470-1900

ファクシミリ番号:

03-5470-1911

加入電信番号:

J 26282

☐ 代理人又は共通の代表者が選任されておらず、上記枠内に特に通知が送付されるあて名を記載している場合は、レ印を付す

第Ⅲ欄の続き その他の出願人又は発明者

この続票を使用しないときは、この用紙を願書に含めないこと。

氏名(名称)及びあて名: (姓・名の順に記載; 法人は公式の完全な名称を記載; あて名は郵便番号及び国名も記載)

田 中 良 和 TANAKA Yoshikazu
 〒520-0246 日本国滋賀県大津市仰木の里2-7-4
 2-7-4, Oginosato, Otsu-shi, SHIGA 520-0246 JAPAN

この欄に記載した者は、次に該当する:

- ☐ 出願人のみである。
☒ 出願人及び発明者である。
☐ 発明者のみである。
 (ここにレ印を付したときは、以下に記入しないこと)

国籍(国名): 日本国 JAPAN

住所(国名): 日本国 JAPAN

この欄に記載した者は、次の指定国についての出願人である:

- ☐ すべての指定国 ☐ 米国を除くすべての指定国 ☒ 米国のみ ☐ 追記欄に記載した指定国

氏名(名称)及びあて名: (姓・名の順に記載; 法人は公式の完全な名称を記載; あて名は郵便番号及び国名も記載)

久 住 高 章 KUSUMI Takaaki
 〒564-0073 日本国大阪府吹田市山手町2-12-21-402
 2-12-21-402, Yamate-cho, Suita-shi, OSAKA 564-0073 JAPAN

この欄に記載した者は、次に該当する:

- ☐ 出願人のみである。
☒ 出願人及び発明者である。
☐ 発明者のみである。
 (ここにレ印を付したときは、以下に記入しないこと)

国籍(国名): 日本国 JAPAN

住所(国名): 日本国 JAPAN

この欄に記載した者は、次の指定国についての出願人である:

- ☐ すべての指定国 ☐ 米国を除くすべての指定国 ☒ 米国のみ ☐ 追記欄に記載した指定国

氏名(名称)及びあて名: (姓・名の順に記載; 法人は公式の完全な名称を記載; あて名は郵便番号及び国名も記載)

斉 藤 和 季 SAITO Kazuki
 〒289-1106 日本国千葉県八街市榎戸663-86
 663-86, Ekido, Yachimata-shi, CHIBA 289-1106 JAPAN

この欄に記載した者は、次に該当する:

- ☐ 出願人のみである。
☒ 出願人及び発明者である。
☐ 発明者のみである。
 (ここにレ印を付したときは、以下に記入しないこと)

国籍(国名): 日本国 JAPAN

住所(国名): 日本国 JAPAN

この欄に記載した者は、次の指定国についての出願人である:

- ☐ すべての指定国 ☐ 米国を除くすべての指定国 ☒ 米国のみ ☐ 追記欄に記載した指定国

氏名(名称)及びあて名: (姓・名の順に記載; 法人は公式の完全な名称を記載; あて名は郵便番号及び国名も記載)

山 崎 真 巳 YAMAZAKI Mami
 〒260-0045 日本国千葉県千葉市中央区弁天4-12-6
 4-12-6, Benten, Chuo-ku, Chiba-shi, CHIBA 260-0045 JAPAN

この欄に記載した者は、次に該当する:

- ☐ 出願人のみである。
☒ 出願人及び発明者である。
☐ 発明者のみである。
 (ここにレ印を付したときは、以下に記入しないこと)

国籍(国名): 日本国 JAPAN

住所(国名): 日本国 JAPAN

この欄に記載した者は、次の指定国についての出願人である:

- ☐ すべての指定国 ☐ 米国を除くすべての指定国 ☒ 米国のみ ☐ 追記欄に記載した指定国

☒ その他の出願人又は発明者が他の続票に記載されている。

第Ⅲ欄の続き その他の出願人又は発明者

この続票を使用しないときは、この用紙を願書に含めないこと。

氏名(名称)及びあて名:(姓・名の順に記載;法人は公式の完全な名称を記載;あて名は郵便番号及び国名も記載)

鞆 志 忠 GONG Zhizhong

〒263-0031 日本国千葉県千葉市稲毛区稲毛東3丁目12番5号
並木コーポ201
201, Namikikopo, 12-5, Inagehigashi 3-chome, Inage-ku,
Chiba-shi, CHIBA 263-0031 JAPANこの欄に記載した者は、
次に該当する:☐ 出願人のみである。☒ 出願人及び発明者である。☐ 発明者のみである。
(ここに印を付したとき
は、以下に記入しないこと)

国籍(国名): 中国 CHINA

住所(国名): 日本国 JAPAN

この欄に記載した者は、次の

指定国についての出願人である:

☐ すべての指定国☐ 米国を除くすべての指定国☒ 米国のみ☐ 追記欄に記載した指定国

氏名(名称)及びあて名:(姓・名の順に記載;法人は公式の完全な名称を記載;あて名は郵便番号及び国名も記載)

この欄に記載した者は、
次に該当する:☐ 出願人のみである。☐ 出願人及び発明者である。☐ 発明者のみである。
(ここに印を付したとき
は、以下に記入しないこと)

国籍(国名):

住所(国名):

この欄に記載した者は、次の

指定国についての出願人である:

☐ すべての指定国☐ 米国を除くすべての指定国☐ 米国のみ☐ 追記欄に記載した指定国

氏名(名称)及びあて名:(姓・名の順に記載;法人は公式の完全な名称を記載;あて名は郵便番号及び国名も記載)

この欄に記載した者は、
次に該当する:☐ 出願人のみである。☐ 出願人及び発明者である。☐ 発明者のみである。
(ここに印を付したとき
は、以下に記入しないこと)

国籍(国名):

住所(国名):

この欄に記載した者は、次の

指定国についての出願人である:

☐ すべての指定国☐ 米国を除くすべての指定国☐ 米国のみ☐ 追記欄に記載した指定国

氏名(名称)及びあて名:(姓・名の順に記載;法人は公式の完全な名称を記載;あて名は郵便番号及び国名も記載)

この欄に記載した者は、
次に該当する:☐ 出願人のみである。☐ 出願人及び発明者である。☐ 発明者のみである。
(ここに印を付したとき
は、以下に記入しないこと)

国籍(国名):

住所(国名):

この欄に記載した者は、次の

指定国についての出願人である:

☐ すべての指定国☐ 米国を除くすべての指定国☐ 米国のみ☐ 追記欄に記載した指定国☐ その他の出願人又は発明者が他の続票に記載されている。

第Ⅴ欄 国の指定

規則 4.9(a)の規定に基づき次の指定を行う（該当する□にレ印を付すこと； 少なくとも1つの□にレ印を付すこと）。

広域特許

- ☐ **AP** **ARIPO** 特許：GH ガーナ Ghana, GM ガンビア Gambia, KE ケニア Kenya, LS レソト Lesotho, MW マラウイ Malawi, SD スーダン Sudan, SZ スワジランド Swaziland, UG ウガンダ Uganda, ZW ジンバブエ Zimbabwe, 及びハラレプロトコルと特許協力条約の締約国である他の国
- ☐ **EA** ユーラシア特許：AM アルメニア Armenia, AZ アゼルバイジャン Azerbaijan, BY ベラルーシ Belarus, KG キルギスタン Kyrgyzstan, KZ カザフスタン Kazakhstan, MD モルドヴァ Republic of Moldova, RU ロシア連邦 Russian Federation, TJ タジキスタン Tajikistan, TM トルクメニスタン Turkmenistan, 及びユーラシア特許条約と特許協力条約の締約国である他の国
- ☒ **EP** ヨーロッパ特許：AT オーストリア Austria, BE ベルギー Belgium, CH and LI スイス及びリヒテンシュタイン Switzerland and Liechtenstein, DE ドイツ Germany, DK デンマーク Denmark, ES スペイン Spain, FI フィンランド Finland, FR フランス France, GB 英国 United Kingdom, GR ギリシャ Greece, IE アイルランド Ireland, IT イタリア Italy, LU ルクセンブルグ Luxembourg, MC モナコ Monaco, NL オランダ Netherlands, PT ポルトガル Portugal, SE スウェーデン Sweden, 及びヨーロッパ特許条約と特許協力条約の締約国である他の国
- ☐ **OA** **OAPI** 特許：BF ブルキナ・ファソ Burkina Faso, BJ ベニン Benin, CF 中央アフリカ Central African Republic, CG コンゴ Congo, CI 象牙海岸 Côte d'Ivoire, CM カメルーン Cameroon, GA ガボン Gabon, GN ギニア Guinea, ML マリ Mali, MR モーリタニア Mauritania, NE ニジェール Niger, SN セネガル Senegal, TD チャード Chad, TG トーゴ Togo, 及びアフリカ知的財産条約と特許協力条約の締約国である他の国（他の種類の保護又は取扱いを求める場合には点線の上に記載する）

国内特許（他の種類の保護又は取扱いを求める場合には点線の上に記載する）

- | | |
|---|---|
| <input type="checkbox"/> AL アルバニア Albania | <input type="checkbox"/> LU ルクセンブルグ Luxembourg |
| <input type="checkbox"/> AM アルメニア Armenia | <input type="checkbox"/> LV ラトヴィア Latvia |
| <input type="checkbox"/> AT オーストリア Austria | <input type="checkbox"/> MD モルドヴァ Republic of Moldova |
| <input checked="" type="checkbox"/> AU オーストラリア Australia | <input type="checkbox"/> MG マダガスカル Madagascar |
| <input type="checkbox"/> AZ アゼルバイジャン Azerbaijan | <input type="checkbox"/> MK マケドニア旧ユーゴスラヴィア The former Yugoslav Republic of Macedonia |
| <input type="checkbox"/> BA ボスニア・ヘルツェゴビナ Bosnia and Herzegovina | <input type="checkbox"/> MN モンゴル Mongolia |
| <input type="checkbox"/> BB バルバドス Barbados | <input type="checkbox"/> MW マラウイ Malawi |
| <input type="checkbox"/> BG ブルガリア Bulgaria | <input type="checkbox"/> MX メキシコ Mexico |
| <input type="checkbox"/> BR ブラジル Brazil | <input type="checkbox"/> NO ノールウェー Norway |
| <input type="checkbox"/> BY ベラルーシ Belarus | <input checked="" type="checkbox"/> NZ ニュー・ジーランド New Zealand |
| <input checked="" type="checkbox"/> CA カナダ Canada | <input type="checkbox"/> PL ポーランド Poland |
| <input type="checkbox"/> CH and LI スイス及びリヒテンシュタイン Switzerland and Liechtenstein | <input type="checkbox"/> PT ポルトガル Portugal |
| <input checked="" type="checkbox"/> CN 中国 China | <input type="checkbox"/> RO ルーマニア Romania |
| <input type="checkbox"/> CU キューバ Cuba | <input type="checkbox"/> RU ロシア連邦 Russian Federation |
| <input type="checkbox"/> CZ チェッコ Czech Republic | <input type="checkbox"/> SD スーダン Sudan |
| <input type="checkbox"/> DE ドイツ Germany | <input type="checkbox"/> SE スウェーデン Sweden |
| <input type="checkbox"/> DK デンマーク Denmark | <input type="checkbox"/> SG シンガポール Singapore |
| <input type="checkbox"/> EE エストニア Estonia | <input type="checkbox"/> SI スロヴェニア Slovenia |
| <input type="checkbox"/> ES スペイン Spain | <input type="checkbox"/> SK スロヴァキア Slovakia |
| <input type="checkbox"/> FI フィンランド Finland | <input type="checkbox"/> SL シエラレオネ Sierra Leone |
| <input type="checkbox"/> GB 英国 United Kingdom | <input type="checkbox"/> TJ タジキスタン Tajikistan |
| <input type="checkbox"/> GE グルジア Georgia | <input type="checkbox"/> TM トルクメニスタン Turkmenistan |
| <input type="checkbox"/> GH ガーナ Ghana | <input type="checkbox"/> TR トルコ Turkey |
| <input type="checkbox"/> GM ガンビア Gambia | <input type="checkbox"/> TT トリニダード・トバゴ Trinidad and Tobago |
| <input type="checkbox"/> GW ギニアビサウ Guinea-Bissau | <input type="checkbox"/> UA ウクライナ Ukraine |
| <input type="checkbox"/> HU ハンガリー Hungary | <input type="checkbox"/> UG ウガンダ Uganda |
| <input type="checkbox"/> ID インドネシア Indonesia | <input checked="" type="checkbox"/> US 米国 United States of America |
| <input type="checkbox"/> IL イスラエル Israel | <input type="checkbox"/> UZ ウズベキスタン Uzbekistan |
| <input type="checkbox"/> IS アイスランド Iceland | <input type="checkbox"/> VN ヴィエトナム Viet Nam |
| <input checked="" type="checkbox"/> JP 日本 Japan | <input type="checkbox"/> YU ユーゴスラヴィア Yugoslavia |
| <input type="checkbox"/> KE ケニア Kenya | <input type="checkbox"/> ZW ジンバブエ Zimbabwe |
| <input type="checkbox"/> KG キルギスタン Kyrgyzstan | |
| <input checked="" type="checkbox"/> KR 韓国 Republic of Korea | |
| <input type="checkbox"/> KZ カザフスタン Kazakhstan | |
| <input type="checkbox"/> LC セントルシア Saint Lucia | |
| <input type="checkbox"/> LK スリ・ランカ Sri Lanka | |
| <input type="checkbox"/> LR リベリア Liberia | |
| <input type="checkbox"/> LS レソト Lesotho | |
| <input type="checkbox"/> LT リトアニア Lithuania | |

以下の□は、この様式の施行後に特許協力条約の締約国となった国を指定（国内特許のために）するためのものである

- ☐ _____
- ☐ _____
- ☐ _____
- ☐ _____
- ☐ _____
- ☐ _____
- ☐ _____
- ☐ _____
- ☐ _____
- ☐ _____

出願人は、上記の指定に加えて、規則 4.9(b)の規定に基づき、特許協力条約の下で認められる全ての国の指定を行う。

ただし、_____の国の指定を除く。
出願人は、これらの追加される指定が確認を条件としていること、並びに優先日から15月が経過する前にその確認がなされない指定は、この期間の経過時に、出願人によって取り下げられたものとみなされることを宣言する。（指定の確認は、指定を特定する通知の提出と指定手数料及び確認手数料の納付からなる。この確認は、優先日から15月以内に受理官庁へ提出されなければならない。）

追記欄 この追記欄を使用しないときは、この用紙を願書に含めないこと。

以下の場合にこの欄を使用する。

1. 全ての情報を該当する欄の中に記載できないとき。

この場合は、「第何欄…の続き」（欄番号を表示する）と表示し、記載できない欄の指示と同じ方法で情報を記載する。；特に、

(i) 出願人及び／又は発明者として3人以上いる場合で、「続表」を使用できないとき。

この場合は、「第Ⅱ欄の続き」と表示し、第Ⅱ欄で求められている同じ情報を、それぞれの者について記載する。

(ii) 第Ⅱ欄又は第Ⅲ欄の枠の中で、「追記欄に記載した指定国」にレ印を付しているとき。

この場合は、「第Ⅱ欄の続き」、「第Ⅲ欄の続き」又は「第Ⅱ欄及び第Ⅲ欄の続き」（このような場合があれば）と記載し、該当する出願人の氏名（名称）を表示し、（それぞれの）氏名（名称）の次にその者が出願人となる指定国（及び／又は、該当する場合は、ARIPO特許・ユーラシア特許・ヨーロッパ特許・OAPI特許）を記載する。

(iii) 第Ⅱ欄又は第Ⅲ欄の枠の中で、発明者又は発明者及び出願人である者が、すべての指定国のための又は米国のための発明者ではないとき。

この場合は、「第Ⅱ欄の続き」、「第Ⅲ欄の続き」又は「第Ⅱ欄及び第Ⅲ欄の続き」（このような場合があれば）と記載し、該当する発明者の氏名を表示し、その者が発明者である指定国（及び／又は、該当する場合は、ARIPO特許・ユーラシア特許・ヨーロッパ特許・OAPI特許）を記載する。

(iv) 第Ⅳ欄に示す代理人以外に代理人がいるとき。

この場合は、「第Ⅳ欄の続き」と表示し、第Ⅳ欄で求められている同じ情報を、それぞれの代理人について記載する。

(v) 第Ⅴ欄において指定国（又は、OAPI特許）が、「追加特許」又は「追加証」を伴うとき、又は、米国が「継続」又は「一部継続」を伴うとき。

この場合は、「第Ⅴ欄の続き」及び該当するそれぞれの指定国（又は、OAPI特許）を表示し、それぞれの指定国（又は、OAPI特許）の後に、原特許又は原出願の番号及び特許付与日又は原出願日を記載する。

(vi) 優先権を主張する先の出願が4件以上あるとき。

この場合は、「第Ⅵの続き」と表示し、第Ⅵ欄で求められている同じ情報を、それぞれの先の出願について記載する。

2. 出願人が、指定官庁について不利にならない開示又は新規性の喪失についての例外に関する国内法の適用を請求するとき。

この場合は、「不利にならない開示又は新規性喪失の例外に関する陳述」と表示し、以下にその内容を記述する。

IV 欄の 続 き

| | | |
|-----|--|------------------|
| 氏 名 | 弁理士 (8787) 福 本 積 | FUKUMOTO Tsumoru |
| 氏 名 | 弁理士 (8826) 戸 田 利 雄 | TODA Toshio |
| 氏 名 | 弁理士 (8289) 西 山 雅 也 | NISHIYAMA Masaya |
| 氏 名 | 弁理士 (8133) 樋 口 外 治 | HIGUCHI Sotoji |
| あて名 | IV欄に記載のあて名に同じ The same address as Box IV | |

第VI欄 優先権主張

☐ 他の優先権の主張（先の出願）が追記欄に記載されている

| 先の出願日 (日、月、年) | 先の出願番号 | 先の出願 | | |
|------------------|--------------|-----------|-------------|------------|
| | | 国内出願：国名 | 広域出願：*広域官庁名 | 国際出願：受理官庁名 |
| (1) 25. 07. 97 | 特願平9-200571号 | 日本国 JAPAN | | |
| (2) | | | | |
| (3) | | | | |

☐ 上記()の番号の先の出願（ただし、本国際出願が提出される受理官庁に対して提出されたものに限る）のうち、次の()の番号のものについては、出願書類の総証拠本を作成し国際事務局へ送付することを、受理官庁（日本国特許庁の長官）に対して請求している。

*先の出願が、ARIPOの特許出願である場合には、その先の出願を行った工業所有権の保護のためのパリ条約同盟国の少なくとも1ヶ国を追記欄に表示しなければならない（規則4.10(b)(ii)）。追記欄を参照。

第VII欄 国際調査機関

国際調査機関（ISA）の選択

先の調査結果の利用請求；当該調査の照会（先の調査が、国際調査機関によって既に実施又は請求されている場合）

出願日（日、月、年）

出願番号

国名（又は広域官庁）

ISA / J P

第VIII欄 照合欄：出願の言語

この国際出願の用紙の枚数は次のとおりである。

| | | |
|-------------|----|---|
| 願書 | 6 | 枚 |
| 明細書（配列表を除く） | 46 | 枚 |
| 請求の範囲 | 2 | 枚 |
| 要約書 | 1 | 枚 |
| 図面 | | 枚 |
| 明細書の配列表 | 37 | 枚 |
| 合計 | 92 | 枚 |

この国際出願には、以下にチェックした書類が添付されている。

- | | |
|---|--|
| 1. <input checked="" type="checkbox"/> 手数料計算用紙 | 5. <input type="checkbox"/> 優先権書類（上記第VI欄の()の番号を記載する） |
| <input checked="" type="checkbox"/> 納付する手数料に相当する特許印紙を貼付した書面 | 6. <input type="checkbox"/> 国際出願の翻訳文（翻訳に使用した言語名を記載する） |
| <input type="checkbox"/> 国際事務局の口座への振込みを証明する書面 | 7. <input type="checkbox"/> 寄託した微生物又は他の生物材料に関する書面 |
| 2. <input checked="" type="checkbox"/> 別個の記名押印された委任状 | 8. <input checked="" type="checkbox"/> スクレオチド又はアミノ酸配列表（フレキシブルディスク） |
| 3. <input type="checkbox"/> 包括委任状の写し | 9. <input checked="" type="checkbox"/> その他（書類名を詳細に記載する） |
| 4. <input type="checkbox"/> 記名押印（署名）の説明書 | |

 陳述書
フレキシブルディスクの記録形式等の情報
を記載した書面

要約書とともに提示する図面：

本国際出願の使用言語名：日本語

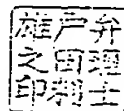
第IX欄 提出者の記名押印

各人の氏名（名称）を記載し、その次に押印する。

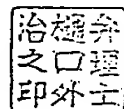
石田 敬



戸田利雄



樋口外治



福本 積



西山雅也



受理官庁記入欄

| | |
|--|---|
| 1. 国際出願として提出された書類の実際の受理の日 | 2. 図面 <input type="checkbox"/> 受理された <input type="checkbox"/> 不足図面がある |
| 3. 国際出願として提出された書類を補充する書類又は図面であって その後期間内に提出されたものの実際の受理の日（訂正日） | |
| 4. 特許協力条約第11条(2)に基づく必要な補充の期間内の受理の日 | |
| 5. 出願人により特定された 国際調査機関 ISA / J P | |
| 6. <input type="checkbox"/> 調査手数料未払いにつき、国際調査機関に 調査用写しを送付していない | |

国際事務局記入欄

記録原本の受理の日



| | | |
|--|-----------|--|
| (51) 国際特許分類6 C12N 15/54, 9/10, A01H 1/00 | A1 | (11) 国際公開番号 WO99/05287 (43) 国際公開日 1999年2月4日 (04.02.99) |
| (21) 国際出願番号 PCT/JP98/03199 (22) 国際出願日 1998年7月16日 (16.07.98) (30) 優先権データ 特願平9/200571 1997年7月25日 (25.07.97) JP (71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) サントリー株式会社(SUNTORY LIMITED)[JP/JP] 〒530-8203 大阪府大阪市北区堂島浜2丁目1番40号 Osaka, (JP) (72) 発明者 ; および (75) 発明者 / 出願人 (米国についてのみ) 水谷正子(MIZUTANI, Masako)[JP/JP] 〒615-8083 京都府京都市西京区桂良町18-21 Kyoto, (JP) 田中良和(TANAKA, Yoshikazu)[JP/JP] 〒520-0246 滋賀県大津市仰木の里2-7-4 Shiga, (JP) 久住高章(KUSUMI, Takaaki)[JP/JP] 〒564-0073 大阪府吹田市山手町2-12-21-402 Osaka, (JP) 斎藤和季(SAITO, Kazuki)[JP/JP] 〒289-1106 千葉県八街市榎戸663-86 Chiba, (JP) 山崎真巳(YAMAZAKI, Mami)[JP/JP] 〒260-0045 千葉県千葉市中央区弁天4-12-6 Chiba, (JP) | | 鞏 志忠(GONG, Zhizhong)[CN/JP] 〒263-0031 千葉県千葉市稲毛区稲毛東3丁目12番5号 並木コーポ201 Chiba, (JP) (74) 代理人 弁理士 石田 敬, 外(ISHIDA, Takashi et al.) 〒105-8423 東京都港区虎ノ門三丁目5番1号 虎ノ門37森ビル 冨和特許法律事務所 Tokyo, (JP) (81) 指定国 AU, CA, CN, JP, KR, NZ, US, 欧州特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE). 添付公開書類 国際調査報告書 |
| (54)Title: GENES ENCODING PROTEINS HAVING TRANSGLYCOSYLATION ACTIVITY (54)発明の名称 糖転移活性を有する蛋白質をコードする遺伝子 (57) Abstract Genes encoding proteins each having an amino acid sequence represented by any of SEQ ID NOS: 7 to 10 and 12 and showing the activity of transferring a glycosyl group to the 5-position of a flavonoid; genes encoding proteins each having an amino acid sequence derived from any of the above amino acid sequences by modification and showing the activity of transferring a glycosyl group to the 5-position of a flavonoid; and a process for producing the above proteins with the use of these genes. These genes are usable in, for example, artificially improving plant colors. | | |

(57)要約

配列番号：7～10又は12のいずれかに記載のアミノ酸配列を有しフラボノイドの5位に糖を転移する活性を有する蛋白質をコードする遺伝子、及び上記アミノ酸配列に対して修飾されたアミノ酸配列を有し且つフラボノイドの5位に糖を転移する活性を有する蛋白質をコードする遺伝子、並びに該遺伝子を用いる前記蛋白質の製造方法を提供する。この遺伝子は、植物の色の人工的改良等のために使用することができる。

PCTに基づいて公開される国際出願のパンフレット第一頁に掲載されたPCT加盟国を同定するために使用されるコード(参考情報)

| | | | | | | | |
|----|--------------|----|-----------|----|----------------|----|------------|
| AL | アルバニア | FI | フィンランド | LK | スリ・ランカ | SI | スロヴェニア |
| AM | アルメニア | FR | フランス | LR | リベリア | SK | スロヴァキア |
| AT | オーストリア | GA | ガボン | LS | レソト | SL | シエラ・レオネ |
| AU | オーストラリア | GB | 英国 | LT | リトアニア | SN | セネガル |
| AZ | アゼルバイジャン | GD | グレナダ | LU | ルクセンブルグ | SZ | スワジランド |
| BA | ボスニア・ヘルツェゴビナ | GE | グルジア | LV | ラトヴィア | TD | チャード |
| BB | バルバドス | GH | ガーナ | MC | モナコ | TG | トーゴ |
| BE | ベルギー | GM | ガンビア | MD | モルドヴァ | TJ | タジキスタン |
| BF | ブルキナ・ファソ | GN | ギニア | MG | マダガスカル | TM | トルクメニスタン |
| BG | ブルガリア | GW | ギニア・ビサウ | MK | マケドニア旧ユーゴスラヴィア | TR | トルコ |
| BJ | ベナン | GR | ギリシャ | | 共和国 | TT | トリニダード・トバゴ |
| BR | ブラジル | HR | クロアチア | ML | マリ | UA | ウクライナ |
| BY | ベラルーシ | HU | ハンガリー | MN | モンゴル | UG | ウガンダ |
| CA | カナダ | ID | インドネシア | MR | モーリタニア | US | 米国 |
| CF | 中央アフリカ | IE | アイルランド | MW | マラウイ | UZ | ウズベキスタン |
| CG | コンゴ | IL | イスラエル | MX | メキシコ | VN | ヴェトナム |
| CH | スイス | IN | インド | NE | ニジェール | YU | ユーゴスラビア |
| CI | コートジボアール | IS | アイスランド | NL | オランダ | ZW | ジンバブエ |
| CM | カメルーン | IT | イタリア | NO | ノルウェー | | |
| CN | 中国 | JP | 日本 | NZ | ニュージーランド | | |
| CU | キューバ | KE | ケニア | PL | ポーランド | | |
| CY | キプロス | KG | キルギスタン | PT | ポルトガル | | |
| CZ | チェッコ | KP | 北朝鮮 | RO | ルーマニア | | |
| DE | ドイツ | KR | 韓国 | RU | ロシア | | |
| DK | デンマーク | KZ | カザフスタン | SD | スーダン | | |
| EE | エストニア | LC | セントルシア | SE | スウェーデン | | |
| ES | スペイン | LI | リヒテンシュタイン | SG | シンガポール | | |

明 細 書

糖転移活性を有する蛋白質をコードする遺伝子

技術分野

本発明は、フラボノイドの5位に糖を転移する活性を有する蛋白質をコードする遺伝子及びその利用方法に関するものである。

背景技術

花産業は新規かつ種々の品種を開発することに努力している。新規な品種の育成のための有効な方法の一つとして花の色を変えることがあり、古典的な育種方法を用いて、ほとんどの商業的品種について広範囲な色を生成することに成功している。しかしながら、この方法では種ごとで遺伝子プールが制限されていることから、単一の種が広範囲の種類の着色品種を有することは稀である。

花の色は主として2つのタイプの色素、即ちフラボノイド及びカロチノイドに基づき、フラボノイドは黄色から赤ないし青色の範囲に寄与し、カロチノイドはオレンジ又は黄色の色調に寄与する。花色に主たる寄与をするフラボノイド分子はシアニジン、デルフィニジン、ペチュニジン、ペオニジン、マルビジン及びペラルゴニジンの配糖体であるアントシアンであり、異なるアントシアンが顕著な花の色の変化をもたらす。さらに花の色は無色のフラボノイドの補助発色、金属錯体形成、グルコシル化、アシル化、メチル化及び液胞のpHにより影響される (Forkmann, Plant Breeding, 106, 1, 1991)。

フェニルアラニンから始まるアントシアニンの生合成経路はよく理解されており (例えばPlant Cell, 7, 1071-1083, 1995)、生合

成に関わる遺伝子はほとんどクローニングされている。たとえば、シソのアントシアニンであるマロニルシソニン（3-O-(6-O-(p-クマロイル) - β -D- グルコシル) -5-O-(6-O-マロニル- β -D- グルコシル) - シアニジン）の生合成にかかわると考えられる遺伝子のうち、そのホモログが現在までに報告されていないものはフラボノイド-3'-ヒドロキシラーゼ、UDP-グルコース：アントシアニン（フラボノイド）5-O-グルコシルトランスフェラーゼ（以下 5 GT）、マロニル基転移酵素遺伝子のみである。

このうち、フラボノイド-3'-ヒドロキシラーゼはチトクローム P 4 5 0 遺伝子のファミリーに属することが知られており（Plant Cell, 7、1071-1083, 1995）チトクローム P 4 5 0 遺伝子は互いに構造的な相同性を示すことが推察される。

一般に、フラボノイド分子の 3 位の水酸基はグルコースによって修飾されているが、グルコシル化をはじめとした糖による修飾は、アントシアニンの安定性と溶解性を増大させると考えられている（The Flavonoids, Chapman & Hall, 1994）。

この反応を触媒する UDP-グルコース：アントシアニジンあるいはフラボノイド 3-グルコシルトランスフェラーゼ（以下 3 GT）をコードする遺伝子はトウモロコシ、大麦、金魚草、リンドウなどの多くの植物から得られており、アミノ酸配列はお互いに有意の相同性を示す。たとえば、単子葉植物のトウモロコシと双子葉植物のリンドウの 3 GT のアミノ酸配列の相同性は 32%、単子葉植物のトウモロコシとオオムギの 3 GT のアミノ酸配列の相同性は 73%、双子葉植物のリンドウとナスの 3 GT では 46% である。

また、ペチュニアの UDP-ラムノース：アントシアニジン 3-グルコシドラムノシルトランスフェラーゼ（3 RT）をコードする遺伝子もクローニングされている。

ところが、多くの植物のフラボノイドの 5 位の水酸基がグルコシル化されているのにも関わらず、この反応を触媒する酵素（5 G T）の遺伝子は未だに得られていない。

また、ペチュニアやストックのアントシアニンの 5 位に糖を転移する反応を測定した例はある（Planta 160, 341-347, 1984、Planta, 168, 586-591, 1986）が、これらの報告は花卉の粗抽出液か部分精製したものを用いて、酵素学的性質を調べたに留まっており、この酵素を純粋な形にまで精製した例はない。また、一般に糖転移酵素は生化学的に不安定であり、酵素の精製は困難である。

フラボノイド分子に糖が付加されることによるその色調の変化はほとんどないが、色調に大きな影響を与える芳香族アシル基はアントシアニン内のグルコース分子やラムノース分子に転移するため、糖転移反応を制御することはアントシアニンの生合成を制御し、ひいては花の色を制御する上で重要である。なお糖転移酵素遺伝子の発現を調節して花の色を変えた例として、ペチュニアの 3 R T による反応を形質転換ペチュニアにおいて制御し、花の色を修飾した例がある。

形質転換可能な植物としては、例えばバラ、キク、カーネーション、ガーベラ、ペチュニア、トレニア、トルコギキョウ、カランコエ、チューリップ、グラジオラスなどが知られている。

発明の開示

そこで、本発明者らは、フラボノイドの 5 位に糖を転移する活性を有する蛋白質をコードする遺伝子を得ることを課題とし、本発明を完成した。

例えばキクのアントシアニン並びにバラおよびカーネーションのアントシアニンの一部は 5 位の水酸基がグルコシル化されていない

。本発明で得られた 5 G T 遺伝子をこれらの植物に導入する事により、アントシアニンの構造を変えることができる。

また、国際公開公報；W O 9 6 / 2 5 5 0 0 に記載されているアシル基転移酵素遺伝子を用いてフラボノイドをアシル化することにより、花色を変化させることや、フラボノイドを安定化させることが可能であるが、アシル基は直接フラボノイドと結合するのではなく、糖を介して結合するため、アシル基転移酵素遺伝子を導入しただけでは、花色の変化が十分でなかったり、安定化しない場合もある。

しかしながら、アシル基転移酵素遺伝子と同時に 5 G T 遺伝子を導入することにより、フラボノイドの 5 位に糖を転移させ、さらにそれをアシル化することができ、アントシアニンの構造が変わり、花の色は青くなることも期待される。

また、アントシアニンの 5 位がグルコシル化されている植物の 5 G T 遺伝子の発現をアンチセンス法やコサプレッション法などで抑制すれば、アントシアニンの生合成を阻害することができ、その結果花の色を変化させることができる。たとえば、リンドウやトルコギキョウで 5 G T 活性を抑制すれば、花の色は赤になることが期待される。

本発明者は、遺伝子組換え技術を用いてシソ、トレニア、バーベナおよびペチュニアから 5 G T の c D N A を単離し、構造遺伝子の塩基配列を決定した。すなわち、これらの植物でアントシアニンの発現している組織に存在する 5 G T をコードしている D N A 配列を提供するものである。さらに、本酵素はアントシアン系色素の 5 位に糖を転移するため、花色の変化に利用することができ、アントシアニンの安定性を増すことができる。

発明の実施の形態

本発明の酵素をコードするDNAを得るには、例えばディファレンシャルディスプレイ (D i f f e r e n t i a l d i s p l a y) 法を用いることができる。例えば、シソ (P e r i l l a f r u t e s c e n s) においては、アントシアニンを蓄積する品種 (例えば紫薫) とアントシアニンを蓄積しない品種 (例えば青薫) があり、アントシアニンを蓄積する品種には存在するがアントシアニンを蓄積しない品種には存在しないDNAをクローニングすれば、本発明の酵素をコードするDNAが得られる可能性がある。

より具体的には、紫薫の葉及び青薫の葉からRNAを抽出し、常法に従ってcDNAを合成し、これを電気泳動により分離し、紫薫由来のcDNAライブラリー中に存在し、青薫由来のcDNAライブラリー中には存在しないcDNAを単離する。次にこうして得られたcDNAをプローブとして用いて、紫薫由来のcDNAライブラリーをスクリーニングし、本発明の酵素をコードするDNAを得る。

上記のようにして本発明の酵素をコードするcDNAが得られれば、このcDNA又はその断片をプローブとして用いて、他の植物からのcDNAライブラリーをスクリーニングすることにより、その植物由来の本発明の酵素をコードするDNAを得ることができる。

本発明においては、上記のスクリーニングの例として、ディファレンシャルディスプレイによりシソ由来の本発明の酵素をコードするDNAをクローニングし (実施例1)、次にこうして得られたDNAをプローブとしてバーベナ (V e r b e n a h y b r i d a) からのcDNAをスクリーニングすることによりバーベナ由来の本発明の酵素をコードするDNAを得 (実施例2)、さらに同様に

してトレニア由来の本発明の酵素をコードするDNAを得た（実施例3）。

そして、これらのDNAが、本発明の酵素の活性を有する蛋白質を発現することを確認した。

さらに、ペチュニア由来の本発明の酵素をコードするDNAを得た（実施例4）。

本発明のDNAとしては、例えば配列番号：7～10又は12のいずれかに記載するアミノ酸配列をコードするものが挙げられる。しかしながら、複数個のアミノ酸の付加、欠失及び／又は他のアミノ酸による置換により修飾されたアミノ酸配列を有する蛋白質も、もとの蛋白質と同様の酵素活性を維持することが知られている。従って本発明は、配列番号：7～10又は12のいずれかに記載のアミノ酸配列に対して1個又は複数個のアミノ酸の付加、欠失及び／又は他のアミノ酸により置換されている修飾されたアミノ酸配列を有し、なお、フラボノイドの5位に糖を転移する活性を維持している蛋白質をコードする遺伝子も本発明に属する。

本発明はまた、配列番号：1～4又は6のいずれかに記載の塩基配列もしくはそこに記載のアミノ酸配列をコードする塩基配列又はそれらの部分、例えばコンセンサス領域の6個以上のアミノ酸をコードする部分に対して、例えば2ないし5×SSC、例えば5×SSC、50℃の条件下でハイブリダイズし、且つフラボノイドの5位に糖を転移する活性を有する蛋白質をコードする遺伝子に関する。なお、最適なハイブリダイゼーション温度は塩基配列やその長さにより異なり、塩基配列が短くなるに従ってハイブリダイゼーション温度は低くするのが好ましく、例えばアミノ酸6個をコードする塩基配列（18塩基）の場合は、50℃以下の温度が好ましい。

このようなハイブリダイゼーションにより選択される遺伝子とし

ては、天然由来のもの、例えば植物由来のもの、例えば、バーベナやトレニア由来の遺伝子が挙げられるが、他の植物、例えばペチュニア、バラ、カーネーション、ヒアシンス等由来の遺伝子であってもよい。また、ハイブリダイゼーションにより選択される遺伝子は、cDNAであってもよく、ゲノムDNAであってもよい。

本発明はさらに、配列番号：7～10又は12のいずれかに記載のアミノ酸配列に対して30%以上、好ましくは50%以上、例えば60%又は70%以上、場合によっては90%以上の相同性を有するアミノ酸配列を有し、且つフラボノイドの5位に糖を転移する活性を有する蛋白質をコードする遺伝子に関する。すなわち、実施例に示すごとく、本発明の酵素をコードするDNAは他の糖転移酵素遺伝子と比較して20～30%の相同性を示す。従って、本発明は、配列番号：7～10又は12に記載のアミノ酸配列と30%以上の相同性を示し、且つ糖転移活性を有する蛋白質をコードする遺伝子を含む。

また、実施例1～4の結果の比較から明らかな通り、本発明の酵素のアミノ酸配列は種によって異り、種間の相同性は50%以上（実施例3及び4参照のこと）、例えば60～70%（実施例2参照のこと）であり、さらに同一種由来の酵素のアミノ酸配列の相同性は90%以上（実施例1参照のこと）である。従って本発明は、配列番号：7～10又は12に記載のアミノ酸配列に対して、50%以上、例えば60～70%以上、場合によってはさらに90%以上の相同性を有するアミノ酸配列を有し、且つ本発明の糖転移酵素活性を維持している蛋白質をコードする遺伝子も本発明の範囲である。

生来の塩基配列を有するDNAは、実施例に具体的に記載するように、例えばcDNAライブラリーのスクリーニングにより得られ

る。

また、修飾されたアミノ酸配列を有する酵素をコードするDNAは、生来の塩基配列を有するDNAを基礎にして、常用の部位特定変異誘発やPCR法を用いて合成することができる。例えば、修飾を導入したい部位を含むDNA断片を、上記により得られたcDNA又はゲノミックDNAの制限酵素消化により得、これを鋳型にして、所望の変異を導入したプライマーを用いて部位特定変異誘発又はPCR法を実施し、所望の修飾を導入したDNA断片を得、これを、目的とする酵素の他の部分をコードするDNAに連結すればよい。

あるいはまた、短縮されたアミノ酸配列を有する酵素をコードするDNAを得るには、例えば目的とするアミノ酸配列より長いアミノ酸配列、例えば全長アミノ酸配列をコードするDNAを、所望の制限酵素により切断し、得られたDNA断片が目的とするアミノ酸配列の全体をコードしていない場合には、不足部分を合成DNAを連結することにより補えばよい。

また、このクローンを大腸菌及び酵母での遺伝子発現系を用いて発現させ、酵素活性を測定することにより、得られた遺伝子が糖転移酵素をコードしていることを確認し、フラボノイドの5位に糖を転移する糖転移酵素遺伝子の翻訳領域を明らかにすることにより本発明に係る糖転移酵素をコードする遺伝子が得られ、更に、当該遺伝子を発現させることにより遺伝子産物である目的のフラボノイドの5位に糖を転移する糖転移酵素蛋白質を得ることができる。

あるいはまた、配列番号7～10又は12のいずれかに記載のアミノ酸配列に対する抗体を用いても、前記蛋白質を得ることができる。

従って本発明はまた、前記のDNAを含んでなる組換えベクター

、特に発現ベクター、及び該ベクターにより形質転換された宿主に関する。宿主としては、原核生物又は真核生物を用いることができる。原核生物としては、細菌、例えばエシェリヒア (E s c h e r i c h i a) 属に属する細菌、例えば大腸菌 (E s c h e r i c h i a c o l i)、バシルス (B a c i l l u s) 属微生物、例えばバシルス・ズブチリス (B a c i l l u s s u b t i l i s)、等常用の宿主を用いることができる。

真核性宿主としては、下等真核生物、例えば真核性微生物、例えば真菌である酵母又は糸状菌が使用できる。酵母としては、例えばサッカロミセス (S a c c h a r o m y c e s) 属微生物、例えばサッカロミセス・セレビシエ (S a c c h a r o m y c e s c e r e v i s i a e) 等が挙げられ、また糸状菌としてはアスペルギルス (A s p e r g i l l u s) 属微生物、例えばアスペルギルス・オリゼ (A s p e r g i l l u s o r y z a e)、アスペルギルス・ニガー (A s p e r g i l l u s n i g e r)、ペニシリウム (P e n i c i l l i u m) 属微生物等が挙げられる。さらに、動物細胞又は植物細胞が使用でき、動物細胞としては、マウス、ハムスター、サル、ヒト等の細胞系が使用される。さらに、昆虫細胞、例えばカイコの細胞、又はカイコの成虫それ自体も宿主として使用される。

本発明の発現ベクターは、それらを導入すべき宿主の種類に依存して発現制御領域、例えばプロモーター及びターミネーター、複製起点等を含む。細菌用発現ベクターのプロモーターとしては、常用のプロモーター、例えば *t r c* プロモーター、*t a c* プロモーター、*l a c* プロモーター等が使用され、酵母用プロモーターとしては、例えばグリセロアルデヒド 3 リン酸デヒドロゲナーゼプロモーター、*P H 0 5* プロモーター等が使用され、糸状菌用プロモータ

ーとしては例えばアミラーゼ、*trp* C等が使用される。また、動物細胞宿主用プロモーターとしてはウイルス性プロモーター、例えばSV40アーリープロモーター、SV40レイトプロモーター等が使用される。

発現ベクターの作製は、制限酵素、リガーゼ等を用いて常法に従って行うことができる。また、発現ベクターによる宿主の形質転換も、常法に従って行うことができる。

前記蛋白質の製造方法においては、前記の発現ベクターにより形質転換された宿主を培養、栽培又は飼育し、培養物等から常法に従って、例えば、濾過、遠心分離、細胞の破碎、ゲル濾過クロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラフィー等により目的とする蛋白質を回収、精製することができる。

なお、本明細書においてはシソ、バーベナ、トレニアおよびペチュニア由来の、フラボノイドの5位に糖を転移する糖転移酵素（本発明において、単に「糖転移酵素」と言う場合がある）について述べているが、当該酵素の精製法をそのまま又は一部を改変して、他の植物の糖転移酵素を精製し、当該酵素に係るアミノ酸配列を決定することにより、当該酵素をコードする遺伝子をクローニングすることができる。更に、本発明に係るシソ由来の糖転移酵素のcDNAをプローブとして用いることにより、シソから別の糖転移酵素のcDNA、他の植物から別の糖転移酵素のcDNAを得ることができた。従って、糖転移酵素の遺伝子の一部または全部を用いると、他の糖転移酵素遺伝子を得ることができる。

また、本明細書において示したように、シソ、バーベナ、トレニアおよびペチュニア由来の糖転移酵素を精製し、常法に従って当該酵素に対する抗体を得ることにより、その抗体と反応する蛋白質を作るcDNA又は染色体DNAをクローニングすることができる。

従って、本発明はシソ、バーベナ、トレニアおよびペチュニア由来の糖転移酵素の遺伝子のみに限定されるものではなく、広く糖転移酵素に関するものである。

さらに本発明は、糖転移酵素の遺伝子を導入することにより、色が調節された植物もしくはその子孫又はそれらの組織に関するものであり、その形態は切花であってもよい。

また、本明細書においてはアントシアンを含むフラボノイドの糖転移反応において、糖の供与体としてUDP-グルコースが挙げられる。

実施例

以下に本発明を実施例に基づいて詳細に説明する。実験の手順は特に記述しない限りMolecular Cloning (Cold Spring Harbor, 1989)、新生物化学実験のてびき第3巻(化学同人1996)、国際公開公報; WO 96/25500に記載の方法に従った。

実施例 1. 赤ジソで特異的に発現している遺伝子のクローニング

(1) ディファレンシャルディスプレイ

シソ (*Perilla frutescens*) には、葉にアントシアニンを蓄積する品種 (例えば紫薫 (サカタのタネ)) とアントシアニンを蓄積しない品種 (例えば、青薫 (サカタのタネ)) があり、主要なアントシアニンの構造はマロニルシソニン (3-O-(6-O-(p-クマロイル) - β -D- グルコシル) -5-O-(6-O-マロニル- β -D- グルコシル) - シアニジン) であることが報告されている (Agri. Biol. Chem. 53:197-198, 1989)。

ディファレンシャルディスプレイは、Science 257, 967-971 (1992) に報告された方法で、組織特異的に発現する遺伝子を得る事などに用いられている。

上記 2 種のシソの葉からホットフェノール法 (Plant Molecular Biology Manual, Kluwer Academic Publishers 1994 pp. D5/1-13) により全 RNA を抽出した。得られた全 RNA から mRNA セパレーターキット (Clonetech 社) を用いてポリ A + RNA を精製した。0.9 μ g のポリ A + RNA をアンカーを付加したオリゴ d T プライマー (GenHunter 社の H-T11G、H-T11A、H-T11C) を用いて反応液 33 μ l で、逆転写し、一本鎖 cDNA を得た。この cDNA を鋳型にし、同じアンカーを付加したオリゴ d T プライマーと合成プライマー (GenHunter 社の H-AP1 から 8) をプライマーとし、PCR を行った。

PCR の反応液の体積は 20 μ l で、2 μ l の cDNA 溶液、0.2 μ M の H-T11G、H-T11A、H-T11C のいずれかのプライマー、0.2 μ M の H-AP1 から 8 のいずれかのプライマー、0.12 μ M dNTP、5 あるいは 10 μ Ci の $[^{32}\text{P}]\text{dCTP}$ 、10mM Tris-HCl (pH9.0)、50 mM KCl、0.01% Triton X-100、1.25 mM MgCl_2 、1 ユニットの Taq ポリメラーゼを含んでいた。反応条件は、以下の通り。72°C で 20 秒間保持した後、94°C 30 秒、40°C 2 分、72°C 30 秒を 1 サイクルとした反応を 40 サイクル繰り返し、72°C で 5 分間保持した。

以上のようにして増幅した DNA 断片を DNA 塩基配列を決定する際のポリアクリルアミドゲル電気泳動で分離した。ゲルを乾燥後、X 線フィルムに露光した。得られたバンド約 2,600 のうち、2 種の品種のシソを比べ、紫薫でのみみられたバンドは 36 本であった。これらを乾燥したゲルから切り出し、100 μ l の水に溶出した。溶出した DNA をエタノール沈殿し、20 μ l の水に溶解した。この内半分量の DNA を鋳型にし、上記に述べた PCR 反応をそれぞれ行い、33 種のバンドについて DNA 断片を増幅できた。この DNA 断片を用いて、ライブラリーのスクリーニングとノザン解析を行

った。

(2) ノザン解析

以上の33種のDNAプローブを用いて以下の方法でノザン解析を行った。紫薫と青薫由来のポリA+RNAを1.2%アガロースを含むホルマリンゲルで分離後、ナイロン膜に転写した。この膜を5XSSPE、5Xデンハルト液、0.5% SDS、20 μ g/mlの変性鮭DNA存在下で65℃で一晩、 32 Pで標識した上記DNAプローブとハイブリダイズさせた。ハイブリダイズした膜を1XSSPE、0.1%SDS溶液中で、65℃で洗浄し、オートラジオグラフィーを得た。その結果、5種のプローブのみが紫薫で特異的に発現していた。これらのクローンはアントシアニンの生合成に関わる遺伝子であることが予想される。

(3) cDNAライブラリーのスクリーニング

紫薫の葉から得たポリA+RNAを用い、コンプリートラピッドクローニングシステム λ gt10（アマーシャム社）を用いて λ gt10をベクターとするcDNAライブラリーを作製した。このcDNAライブラリーを先に述べた5種のDNA断片を用いてスクリーニングし、それぞれに対応するcDNAを得た。このうち、3R5と名付けたクローンは、H-T11AとH-AP3のプライマーに由来するDNA断片を用いて、得られたもので、すでに報告されているトウモロコシのフラボノイド-3-O-糖転移酵素にアミノ酸レベルで約26%のホモロジーを示した。

また、同じプローブを用いたライブラリーのスクリーニングで3R4および3R6としたクローンが得られ、これらは3R5と非常に高いホモロジーを示した。3R4および3R6の全塩基配列と推定アミノ酸配列をそれぞれ配列表・配列番号1と配列番号2に示した。また3R4と3R6にコードされるタンパク質の推定アミノ酸

配列は 92 % の相同性を示した。

8 R 6 と名付けたクローンは、H-T11G と H-AP8 のプライマーに由来する DNA 断片を用いて、得られたもので、今までに報告されている DNA 塩基配列とは有意のホモロジーを示さなかった。この配列を配列表・配列番号 5 に示した。8 R 6 は、アントシアニンの生合成に関わる遺伝子である可能性が強いが、その構造が今までに報告されている遺伝子と相同性がないことから、アントシアニン生合成に関わる新規遺伝子であることが予想される。

シソのアントシアニン（前述のマロニルシソニン）の構造を考慮すれば、本遺伝子はマロニル基転移酵素であることが予想される。これを証明するには、この遺伝子を酵母や大腸菌で発現させ、アントシアニンとマロニル CoA を基質として反応させればよい。このような実験は、例えば国際公開公報；WO 96 / 25500 に記載してある方法を用いて行うことができる。マロニル基転移酵素遺伝子もアントシアニンの構造を人為的に改変する上で、有用である。

（４）酵母における 3 R 4 の cDNA の発現

p 3 R 4 の BstXI 切断部位を T 4 DNA ポリメラーゼ（宝酒造）を用いて平滑化し、さらにアダプター内の BamHI 切断部位で切り出して得られる約 1.5kb の DNA 断片と、p Y E 2 2 m の EcoRI 切断末端を平滑化し、さらに BamHI 消化して得られる約 8 kb の DNA 断片を連結して得られるプラスミドを p Y 3 R 4 とした。

なお、p Y E 2 2 m を有する大腸菌 J M 1 0 9 株は、Escherichia coli S B M 3 3 5 と命名し、F E R M B P - 5 4 3 5 として工業技術院生命工学工業技術研究所に寄託されている。p Y 3 R 4 において、糖転移酵素をコードしている cDNA は、酵母の構成的なプロモーターのひとつであるグリセロアルデヒド 3 リン酸脱水素酵素のプロモーターの下流に連結されており、同プロモーターによ

り転写が制御されている。

p Y 3 R 4 を用いて、酵母サッカロミセス・セレビシエー (*Saccharomyces cerevisiae*) G1315 (Ashikari et al.、Appl. Microbiol. Biotechnol. 30, 515-520, 1989) を伊藤らの方法 (Ito et al. J. Bacteriol., 153, 163-168, 1983) で形質転換した。形質転換された酵母はトリプトファンの合成能の回復により選択した。得られた形質転換株を10mlの、1%カザミノ酸 (Difco 社) を含むバークホルダー培地 (Burkholder, Amer. J. Bot. 30, 206-210) にて、30℃で24時間振盪培養した。

併せて、対照実験のために、トリプトファンの合成能を自然に回復した酵母も同様に培養した。これらを集菌後、懸濁バッファー (100 mM リン酸バッファー (pH 8.5)、0.1% (v/v) 2-メルカプトエタノール、10 μ M APMSF、100 μ M UDP-グルコース) に懸濁し、ガラスビーズ (Glass Beads 425-600microns Acid-Wash、シグマ社) を加えて激しく振盪することにより磨砕した。これを15,000 rpm、20分遠心した上清を粗酵素液とし、以下の酵素活性測定に用いた。

(5) 酵素活性の測定

粗酵素液 20 μ l を含む50 μ l 反応液 (100 mM リン酸バッファー (pH 8.5)、670 μ M シアニジン-3- β -グルコシド、1 mM UDP-グルコース) を30℃、10分反応させた後、0.1% TFAを含む50% アセトニトリル溶液50 μ l を添加し反応を停止させた。15,000rpm、5分遠心した上清をサンプレップ LCR4(T)-LC (ミリポア社) を通して不溶物を除いた。これを液体高速クロマトグラフィー (HPLC) で分析した。分析は逆相カラム (Asahipak ODP-50, 4.6mm ϕ *250mm 昭和電工株式会社製) を用い移動相はA溶液は0.5% TFA/H₂O、B溶液は0.5% TFA 50%CH₃CN、流速は0.6 ml/min. で B20% \rightarrow

B100 % (20min)の後B100% 5min保持のグラジエントで溶出した。

分析には反応溶液20 μ lを供した。検出にはA520 nm, AUFS 0.5 (島津SPD-10A)とフォトダイオードアレイ検出器(島津SPD-M6A)による600-250 nmの吸収を用いた。pY3R4を発現させた酵母の粗酵素液を反応させたものでは、基質シアニジン-3- β -グルコシド(展開時間17分)に加え、14.5分に展開される新たな物質が生成した。これは対照実験の酵母の粗酵素液を反応させたものでは見られないことから、pY3R4に由来するタンパク質の活性によって生じたものと考えられる。シアニジン-3,5- β -グルコシドとのコクロマトグラフィーの結果、この反応生成物の展開時間はシアニジン-3,5- β -グルコシドのものと一致し、また両者の吸収スペクトルも一致した。以上のことから、シソの3R4のcDNAは5GTをコードすることがわかった。

実施例 2. バーベナ(Verbena hybrida)の5GT遺伝子のクローニング

(1) cDNAライブラリーの作製

バーベナ品種花手鞠バイオレット(サントリー)から花卉を集め、液体窒素中で乳鉢で磨砕した。この磨砕物から、グアニジンチオシアネート/塩化セシウムを用いる方法によりRNAを抽出し、オリゴテックス(宝酒造)を用いて製造者が推奨する方法にてポリA+RNAを得た。グアニジンチオシアネート/塩化セシウムを用いる方法は、R. McGookin, Robert J. Slaterらの、Methods in Molecular Biology vol 2, (Humana Press Inc. 1984)に詳細に示されている方法に従った。

得られたポリA+RNAを鋳型とし、ストラタジーン社のZAP-cDNA合成キットを用いて2本鎖cDNAを合成し、さらにUni-ZAP XR クローニングキット(ストラタジーン社)を用いて、製造者の推奨

する方法で c D N A ライブラリーを作製した。

(2) 5 G T の c D N A のクローニング

上記のようにして得られた λ フェージライブラリーをシソの p 3 R 4 の c D N A をプローブとして以下のようにしてスクリーニングした。フィルターをハイブリダイゼーションバッファー (5X SSC, 30% ホルムアミド、50 mM リン酸ナトリウムバッファー (pH 7.0)、1% SDS、2% Blocking reagent (ベーリンガー社)、0.1% ラウロイルサルコシン、80 μ g/ml サケ精子 D N A) 中で 42 °C で 1 時間保持した。D I G 標識したシソの 5 G T 遺伝子、p 3 R 4 の D N A 断片を、ハイブリダイゼーション液中に加え、さらに 16 時間のインキュベーションを行った。

洗浄液 (5 X SSC 50°C、1% SDS) でフィルターを洗浄した後、アルカリホスファターゼで標識された D I G 特異的な抗体による酵素免疫測定法 (ベーリンガー社) によって、5- ブロモ 4- クロロ 3- インドリルリン酸とニトロブルーテトラゾリウム塩の発色反応でプローブがハイブリダイズしたクローンを検出した。検出方法は使用説明書に従った。

この結果、7 個の陽性クローンが得られた。ストラタジーン社の推奨する方法で、これら c D N A をプラスミド pBluescript SK 上に回収した。アガロースゲル電気泳動で c D N A の長さを調べたところ、最長 2.0 kb の挿入が認められた。

(3) 塩基配列の決定

得られたクローンからプラスミドを抽出し、シーケンサー ABI 373A (パーキンエルマー社) を用い、同社の推奨する蛍光試薬によるダイデオキシ シーケンス法で、c D N A の 3' および 5' 末端付近側の塩基配列を決定した。その結果、これら 7 クローンのうち 5 個のクローンは、互いに同じ塩基配列を持っており、c D N A

の長さが異なるものと考えられた。このうち p S H G T 8 の全塩基配列を決定した。塩基配列の決定は、Kilo-Sequence 用 deletion キット（宝酒造）を用いて、一連の欠失クローンを得るか、もしくは p S H G T 8 の内部配列に特異的なオリゴプライマーを用いて、上述のように行った。

（４）塩基配列とアミノ酸配列の比較

p S H G T 8 に挿入された c D N A は 2 0 6 2 b p でありその中に 1 3 8 6 b p（終止コドンを含む）からなるオープンリーディングフレーム（O R F）が見い出された。この配列を配列番号 3 に示す。この O R F のアミノ酸配列は、シソの p 3 R 4 にコードされる 5 G T のアミノ酸配列と 6 8 %、p 3 R 6 にコードされるものとは 6 4 % の相同性を示した。また、単子葉植物及び双子葉植物の 3 G T とは 2 2 ~ 2 5 %、ペチュニアの 3 R T とは 2 1 % の相同性を示した。

（５）酵母における発現と酵素活性の測定

p S H G T 8 を BamHI/XhoI で消化して得られる約 2.0 kb の D N A 断片と p Y E 2 2 m を BamHI/SalI で消化して得られる約 8 kb の D N A 断片を連結して得られるプラスミドを p Y H G T 8 とした。実施例 1 同様にして、酵母菌体内で p Y H G T 8 を発現し、p S H G T 8 によってコードされるタンパク質の酵素活性について測定した。その結果、p Y H G T 8 を導入した酵母の粗酵素液を反応させたものでは、シアニジン-3,5-ジグルコシドと展開時間、スペクトル共に一致する生成物ができた。このことから、バーベナの p S H G T 8 の c D N A は 5 G T をコードすることがわかった。

実施例 3. トレニアの 5 G T 遺伝子のクローニング

（１）c D N A ライブラリーの作製

トレニア品種サマーウェーブブルー（サントリー（株））から花

弁を集め、液体窒素中で乳鉢で磨砕した。この磨砕物から、グアニジンチオシアネート／塩化セシウムを用いる方法によりRNAを抽出し、オリゴテックス（宝酒造（株））を用いて製造者が推奨する方法にてポリA＋RNAを得た。グアニジンチオシアネート／塩化セシウムを用いる方法は、R. McGookin, Robert J. Slater らの、Methods in Molecular Biology vol 2, (Humana Press Inc. 1984) に詳細に示されている方法に従った。

得られたポリA＋RNAを鋳型とし、ストラタジーン社のZAP-cDNA合成キットを用いて2本鎖cDNAを合成し、さらにUni-ZAP XRクローニングキット（ストラタジーン社）を用いて、製造者の推奨する方法でcDNAライブラリーを作製した。

（2）5' GTのcDNAのクローニング

上記のようにして得られたλファージライブラリーをシソのp3R4のcDNAをプローブとして実施例2と同様にしてスクリーニングした。この結果8個の陽性クローンが得られた。cDNAをプラスミドpBluescript SK上に回収したのち、アガロースゲル電気泳動でcDNAの長さを調べたところ、最長1.6 kbの挿入が認められた。

（3）塩基配列の決定

得られたクローンからプラスミドを抽出し、実施例2と同様にして両末端付近の塩基配列を決定した。その結果、これらのクローンのうち6個は互いに同じ塩基配列を持っており、cDNAの長さが異なるものと考えられた。この6クローンのうちpSTGT5の全塩基配列を決定した。

（4）塩基配列とアミノ酸配列の比較

pSTGT5に挿入されたcDNAは1671bpでありその中に1437bp（終止コドンを含む）からなるオープンリーディング

グフレーム (O R F) が見い出された。この配列を配列番号 4 に示す。この O R F のアミノ酸配列は、シソの p 3 R 4 にコードされる 5 G T のアミノ酸配列と 5 8 %、p 3 R 6 にコードされるものとは 5 7 %、バーベナの p S H G T 8 にコードされるものとは 5 7 % の相同性を示した。また、単子葉植物及び双子葉植物の 3 G T とは 1 9 ~ 2 3 %、ペチュニアの 3 R T とは 2 0 % の相同性を示した。

(5) 酵母における 5 G T 遺伝子の発現

p S T G T 5 を SmaI/KpnI で消化して得られる約 1.6 kb の D N A 断片と、p Y E 2 2 m の EcoRI 切断を平滑化し、さらに KpnI 消化して得られる約 8 kb の D N A 断片を連結して得られるプラスミドを p Y T G T 5 とした。実施例 1 と同様にして、酵母菌体内で p Y T G T 5 を発現し、p S T G T 5 にコードされるタンパク質の酵素活性について測定した。その結果、p Y T G T 5 を導入した酵母の粗酵素液を反応させたものでは、シアニジン-3,5-ジグルコシドと展開時間、スペクトル共に一致する生成物が得られた。このことから、トレニアの p S T G T 5 の c D N A は 5 G T をコードすることがわかった。

実施例 4. ペチュニアの 5 G T 遺伝子のクローニング

(1) c D N A ライブラリーの作製

ペチュニア品種 Old Glory Blue の花卉より抽出した R N A をもとに、T. Holton らの報告 (Plant Journal, 1993 4: 1003-1010) に詳細に記されているようにして、c D N A ライブラリーを作製した。

(2) 5 G T の c D N A のクローニング

前述のようにして得られたシソ、トレニア、バーベナの 5 G T c D N A をプローブとして実施例 2 と同様にしてスクリーニングした。この結果、得られた陽性クローンのうち 4 個をプラスミド pBlues

cript SK- 上に回収した。アガロース電気泳動で c D N A の長さを調べたところ、最長 2.0kb の c D N A が認められた。

(3) 塩基配列の決定

て 5' 末端付近の塩基配列を決定した。その結果これらのクローンのうち 2 つ、p S P G T 1 は、これまで得られているシソ、トレニア、バーベナの 5 G T と高い相同性を示すアミノ酸配列をコードすることが明らかとなった。そこで p S P G T 1 の全塩基配列を決定した。

(4) 塩基配列とアミノ酸配列の比較

p S P G T 1 に挿入された c D N A は 2 1 0 5 b p であり、その中に 1 4 0 7 b p (終始コドンを含む) からなる O R F が見出された。この配列を配列番号 6 に示す。この O R F のアミノ酸配列はシソの p 3 R 4 にコードされる 5 G T のアミノ酸配列と 5 7 %、p 3 R 6 にコードされるアミノ酸配列と 5 4 %、バーベナの p S H G T 8 にコードされるものとは 5 5 %、トレニアの p T G T 5 にコードされるものとは 5 1 % の相同性を示した。また単子葉植物、双子葉植物の 3 G T とは 2 0 ~ 2 9 %、ペチュニアの 3 R T とは 2 0 % の相同性を示した。このことから、ペチュニアから得られた p S P G T 1 の c D N A は 5 G T をコードすると考えられる。

産業上の利用可能性

以上のようにシソ、バーベナ、トレニアおよびペチュニア由来のフラボノイドの 5 位に糖を転移する酵素をコードする c D N A のクローニングと塩基配列の決定を行った。また、酵母での活性発現を行うことにより、分離した c D N A が 5 G T をコードすることを明らかにした。この c D N A を適当な植物発現ベクターに接続し、植物に導入し、5 G T の活性を付与したり、増加させたり、減少させ

たりすることにより植物の花色調節に利用することが可能となった。また、本酵素活性を利用することにより、植物の中であるいは試験管内でアントシアンの構造を改変し、より安定なアントシアンを合成することができる。

配 列

配列 : 1

配列の長さ : 1 5 0 7

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 二本鎖

トポロジー : 直鎖状

起源

生物名 : シソ (*Perilla frutescens*)

組織の種類 : 葉

直接の起源

ライブラリー名 : cDNA library

クローン名 : p 3 R 4

配列

| | | | | | | | | | | | | | |
|---|--------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| GAAAATTTCC | ACAAAA | ATG | GTC | CGC | CGC | CGC | GTG | CTG | CTA | GCA | ACG | TTT | 49 |
| Met Val Arg Arg Arg Val Leu Leu Ala Thr Phe | | | | | | | | | | | | | |
| 1 | | | 5 | | | 10 | | | | | | | |
| CCT | GCG | CAA | GGC | CAC | ATA | AAT | CCC | GCC | CTC | CAA | TTC | GCC | 97 |
| Pro Ala Gln Gly His Ile Asn Pro Ala Leu Gln Phe Ala Lys Arg Leu | | | | | | | | | | | | | |
| 15 | | | 20 | | | 25 | | | | | | | |
| CTA | AAA | GCC | GGC | ACT | GAC | GTC | ACA | TTT | TTC | ACG | AGC | GTT | 145 |
| Leu Lys Ala Gly Thr Asp Val Thr Phe Phe Thr Ser Val Tyr Ala Trp | | | | | | | | | | | | | |
| 30 | | | 35 | | | 40 | | | | | | | |
| CGC | CGC | ATG | GCC | AAC | ACA | GCC | TCC | GCC | GCT | GCC | GGA | AAC | 193 |
| Arg Arg Met Ala Asn Thr Ala Ser Ala Ala Ala Gly Asn Pro Pro Gly | | | | | | | | | | | | | |
| 45 | | | 50 | | | 55 | | | | | | | |

| | |
|--|-----|
| CTC GAC TTC GTG GCG TTC TCC GAC GGC TAC GAC GAC GGG CTG AAG CCC | 241 |
| Leu Asp Phe Val Ala Phe Ser Asp Gly Tyr Asp Asp Gly Leu Lys Pro | |
| 60 65 70 75 | |
| TGC GGC GAC GGG AAG CGC TAC ATG TCC GAG ATG AAA GCC CGC GGC TCC | 289 |
| Cys Gly Asp Gly Lys Arg Tyr Met Ser Glu Met Lys Ala Arg Gly Ser | |
| 80 85 90 | |
| GAG GCC TTA AGA AAC CTC CTT CTC AAC AAC CAC GAC GTC ACG TTC GTC | 337 |
| Glu Ala Leu Arg Asn Leu Leu Leu Asn Asn His Asp Val Thr Phe Val | |
| 95 100 105 | |
| GTC TAC TCC CAC CTC TTT GCA TGG GCG GCG GAG GTG GCG CGT GAG TCC | 385 |
| Val Tyr Ser His Leu Phe Ala Trp Ala Ala Glu Val Ala Arg Glu Ser | |
| 110 115 120 | |
| CAG GTC CCG AGC GCC CTT CTC TGG GTC GAG CCC GCC ACC GTG-CTG TGC | 433 |
| Gln Val Pro Ser Ala Leu Leu Trp Val Glu Pro Ala Thr Val Leu Cys | |
| 125 130 135 | |
| ATA TAT TAC TTC TAC TTC AAC GGC TAC GCA GAC GAG ATC GAC GCC GGT | 481 |
| Ile Tyr Tyr Phe Tyr Phe Asn Gly Tyr Ala Asp Glu Ile Asp Ala Gly | |
| 140 145 150 155 | |
| TCC GAC GAA ATT CAG CTC CCT CGG CTT CCA CCC CTG GAG CAG CGC AGT | 529 |
| Ser Asp Glu Ile Gln Leu Pro Arg Leu Pro Pro Leu Glu Gln Arg Ser | |
| 160 165 170 | |
| CTT CCG ACC TTT CTG CTG CCG GAG ACA CCG GAG AGA TTC CGG TTG ATG | 577 |
| Leu Pro Thr Phe Leu Leu Pro Glu Thr Pro Glu Arg Phe Arg Leu Met | |
| 175 180 185 | |
| ATG AAG GAG AAG CTG GAA ACT TTA GAC GGT GAA GAG AAG GCG AAA GTG | 625 |
| Met Lys Glu Lys Leu Glu Thr Leu Asp Gly Glu Glu Lys Ala Lys Val | |
| 190 195 200 | |

| | |
|---|------|
| TTG GTG AAC ACG TTT GAT GCG TTG GAG CCC GAT GCA CTC ACG GCT ATT | 673 |
| Leu Val Asn Thr Phe Asp Ala Leu Glu Pro Asp Ala Leu Thr Ala Ile | |
| 205 210 215 | |
| GAT AGG TAT GAG TTG ATC GGG ATC GGG CCG TTG ATT CCC TCC GCC TTC | 721 |
| Asp Arg Tyr Glu Leu Ile Gly Ile Gly Pro Leu Ile Pro Ser Ala Phe | |
| 220 225 230 235 | |
| TTG GAC GGC GGA GAT CCC TCC GAA ACG TCT TAC GGC GGC GAT CTT TTC | 769 |
| Leu Asp Gly Gly Asp Pro Ser Glu Thr Ser Tyr Gly Gly Asp Leu Phe | |
| 240 245 250 | |
| GAA AAA TCG GAG GAG AAT AAC TGC GTG GAG TGG TTG GAC ACG AAG CCG | 817 |
| Glu Lys Ser Glu Glu Asn Asn Cys Val Glu Trp Leu Asp Thr Lys Pro | |
| 255 260 265 | |
| AAA TCT TCG GTG GTG TAT GTG TCG TTT GGG AGC GTT TTG AGG TTT CCA | 865 |
| Lys Ser Ser Val Val Tyr Val Ser Phe Gly Ser Val Leu Arg Phe Pro | |
| 270 275 280 | |
| AAG GCA CAA ATG GAA GAG ATT GGG AAA GGG CTA TTA GCC TGC GGA AGG | 913 |
| Lys Ala Gln Met Glu Glu Ile Gly Lys Gly Leu Leu Ala Cys Gly Arg | |
| 285 290 295 | |
| CCG TTT TTA TGG ATG ATA CGA GAA CAG AAG AAT GAC GAC GGC GAA GAA | 961 |
| Pro Phe Leu Trp Met Ile Arg Glu Gln Lys Asn Asp Asp Gly Glu Glu | |
| 300 305 310 315 | |
| GAA GAA GAA GAG TTG AGT TGC ATT GGG GAA TTG AAA AAA ATG GGG AAA | 1009 |
| Glu Glu Glu Glu Leu Ser Cys Ile Gly Glu Leu Lys Lys Met Gly Lys | |
| 320 325 330 | |
| ATA GTT TCG TGG TGC TCG CAG TTG GAG GTT CTG GCG CAC CCT GCG TTG | 1057 |
| Ile Val Ser Trp Cys Ser Gln Leu Glu Val Leu Ala His Pro Ala Leu | |
| 335 340 345 | |

GGA TGT TTC GTG ACG CAT TGT GGG TGG AAC TCG GCT GTG GAG AGC TTG 1105
 Gly Cys Phe Val Thr His Cys Gly Trp Asn Ser Ala Val Glu Ser Leu
 350 355 360
 AGT TGC GGG GTT CCG GTG GTG GCG GTG CCG CAG TGG TTT GAT CAG ACG 1153
 Ser Cys Gly Val Pro Val Val Ala Val Pro Gln Trp Phe Asp Gln Thr
 365 370 375
 ACG AAT GCG AAG CTG ATT GAG GAT GCG TGG GGG ACA GGG GTG AGA GTG 1201
 Thr Asn Ala Lys Leu Ile Glu Asp Ala Trp Gly Thr Gly Val Arg Val
 380 385 390 395
 AGA ATG AAT GAA GGG GGT GGG GTT GAT GGA TCT GAG ATA GAG AGG TGT 1249
 Arg Met Asn Glu Gly Gly Gly Val Asp Gly Ser Glu Ile Glu Arg Cys
 400 405 410
 GTG GAG ATG GTG ATG GAT GGG GGT GAG AAG AGC AAA CTA GTG AGA GAA 1297
 Val Glu Met Val Met Asp Gly Gly Glu Lys Ser Lys Leu Val Arg Glu
 415 420 425
 AAT GCC ATA AAA TGG AAG ACT TTG GCC AGA GAA GCC ATG GGA GAG GAT 1345
 Asn Ala Ile Lys Trp Lys Thr Leu Ala Arg Glu Ala Met Gly Glu Asp
 430 435 440
 GGA TCT TCA CTC AAG AAT CTC AAC GCC TTT CTT CAT CAA GTT GCA CGT 1393
 Gly Ser Ser Leu Lys Asn Leu Asn Ala Phe Leu His Gln Val Ala Arg
 445 450 455
 GCT TAATACACAA AATGGCTTTC CACTTTTAAT CTA CTCAAAC ACCGGTTCAA 1446
 Ala
 460
 ATAAATATCC CCTTCCACTT CTTTCTATTT CACTATCACA TTTATAATTT TAGTAACAAA 1506
 A 1507

配列 : 2

配列の長さ : 1 4 7 0

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 二本鎖

トポロジー : 直鎖状

起源

生物名 : シソ (*Perilla frutescens*)

組織の種類 : 葉

直接の起源

ライブラリー名 : cDNA library

クローン名 : p 3 R 6

配列

| | |
|---|-----|
| ACCAAACCAA AACAAAATTT CCACAAAA ATG GTC CGC CGC CGC GTG CTG CTA | 48 |
| Met Val Arg Arg Arg Val Leu Leu | |
| 1 5 | |
| GCA ACG TTT CCG GCG CAA GGC CAC ATA AAT CCC GCC CTC CAA TTC GCC | 96 |
| Ala Thr Phe Pro Ala Gln Gly His Ile Asn Pro Ala Leu Gln Phe Ala | |
| 10 15 20 | |
| AAG AGA CTC CTA AAA GCC GGC ACT GAC GTC ACG TTT TTC ACG AGC GTT | 144 |
| Lys Arg Leu Leu Lys Ala Gly Thr Asp Val Thr Phe Phe Thr Ser Val | |
| 25 30 35 40 | |
| TAT GCA TGG CGC CGC ATG GCC AAC ACA GCC TCC GCC GCT GCC GGA AAC | 192 |
| Tyr Ala Trp Arg Arg Met Ala Asn Thr Ala Ser Ala Ala Ala Gly Asn | |
| 45 50 55 | |
| CCA CCG GGC CTC GAC TTC GTG GCG TTC TCC GAC GGC TAC GAC GAC GGG | 240 |
| Pro Pro Gly Leu Asp Phe Val Ala Phe Ser Asp Gly Tyr Asp Asp Gly | |
| 60 65 70 | |

| | |
|---|-----|
| CTG AAG CCC GGC GGC GAC GGG AAG CGC TAC ATG TCC GAG ATG AAA GCC | 288 |
| Leu Lys Pro Gly Gly Asp Gly Lys Arg Tyr Met Ser Glu Met Lys Ala | |
| 75 80 85 | |
| CGC GGC TCC GAG GCC TTA AGA AAC CTC CTT CTC AAC AAC GAC GAC GTC | 336 |
| Arg Gly Ser Glu Ala Leu Arg Asn Leu Leu Leu Asn Asn Asp Asp Val | |
| 90 95 100 | |
| ACT TTC GTC GTC TAC TCC CAC CTC TTT GCA TGG GCG GCG GAG GTG GCG | 384 |
| Thr Phe Val Val Tyr Ser His Leu Phe Ala Trp Ala Ala Glu Val Ala | |
| 105 110 115 120 | |
| CGT TTG TCC CAC GTC CCG ACC GCC CTT CTC TGG GTC GAG CCC GCC ACC | 432 |
| Arg Leu Ser His Val Pro Thr Ala Leu Leu Trp Val Glu Pro Ala Thr | |
| 125 130 135 | |
| GTG CTG TGC ATA TAC CAC TTC TAC TTC AAC GGC TAC GCA GAC GAG ATC | 480 |
| Val Leu Cys Ile Tyr His Phe Tyr Phe Asn Gly Tyr Ala Asp Glu Ile | |
| 140 145 150 | |
| GAC GCC GGT TCC AAT GAA ATT CAG CTC CCT CGG CTT CCA TCC CTG GAG | 528 |
| Asp Ala Gly Ser Asn Glu Ile Gln Leu Pro Arg Leu Pro Ser Leu Glu | |
| 155 160 165 | |
| CAG CGC AGT CTT CCG ACG TTT CTG CTG CCT GCG ACG CCG GAG AGA TTC | 576 |
| Gln Arg Ser Leu Pro Thr Phe Leu Leu Pro Ala Thr Pro Glu Arg Phe | |
| 170 175 180 | |
| CGG TTG ATG ATG AAG GAG AAG CTG GAA ACT TTA GAC GGT GAA GAG AAG | 624 |
| Arg Leu Met Met Lys Glu Lys Leu Glu Thr Leu Asp Gly Glu Glu Lys | |
| 185 190 195 200 | |
| GCG AAA GTA TTG GTG AAC ACG TTT GAT GCG TTG GAG CCC GAT GCA CTC | 672 |
| Ala Lys Val Leu Val Asn Thr Phe Asp Ala Leu Glu Pro Asp Ala Leu | |
| 205 210 215 | |

| | |
|---|------|
| ACG GCT ATT GAT AGG TAT GAG TTG ATC GGG ATC GGG CCG TTG ATT CCC | 720 |
| Thr Ala Ile Asp Arg Tyr Glu Leu Ile Gly Ile Gly Pro Leu Ile Pro | |
| 220 225 230 | |
| TCC GCC TTC TTG GAC GGC GAA GAT CCC TCC GAA ACG TCT TAC GGC GGC | 768 |
| Ser Ala Phe Leu Asp Gly Glu Asp Pro Ser Glu Thr Ser Tyr Gly Gly | |
| 235 240 245 | |
| GAT CTT TTC GAA AAA TCG GAG GAG AAT AAC TGC GTG GAG TGG TTG AAC | 816 |
| Asp Leu Phe Glu Lys Ser Glu Glu Asn Asn Cys Val Glu Trp Leu Asn | |
| 250 255 260 | |
| TCG AAG CCG AAA TCT TCG GTG GTG TAT GTG TCG TTT GGG AGC GTT TTG | 864 |
| Ser Lys Pro Lys Ser Ser Val Val Tyr Val Ser Phe Gly Ser Val Leu | |
| 265 270 275 280 | |
| AGG TTT CCA AAG GCA CAA ATG GAA GAG ATT GGG AAA GGG CTA TTA GCC | 912 |
| Arg Phe Pro Lys Ala Gln Met Glu Glu Ile Gly Lys Gly Leu Leu Ala | |
| 285 290 295 | |
| TGC GGA AGG CCC TTT TTA TGG ATG ATA CGA GAA CAG AAG AAT GAC GAC | 960 |
| Cys Gly Arg Pro Phe Leu Trp Met Ile Arg Glu Gln Lys Asn Asp Asp | |
| 300 305 310 | |
| GGC GAA GAA GAA GAA GAA GAA GAA GAG TTG AGT TGC ATT GGG GAA TTG | 1008 |
| Gly Glu Glu Glu Glu Glu Glu Glu Glu Leu Ser Cys Ile Gly Glu Leu | |
| 315 320 325 | |
| AAA AAA ATG GGG AAA ATA GTG TCG TGG TGC TCG CAG TTG GAG GTT CTG | 1056 |
| Lys Lys Met Gly Lys Ile Val Ser Trp Cys Ser Gln Leu Glu Val Leu | |
| 330 335 340 | |
| GCG CAC CCT GCG TTG GGA TGT TTC GTG ACG CAT TGT GGG TGG AAC TCG | 1104 |
| Ala His Pro Ala Leu Gly Cys Phe Val Thr His Cys Gly Trp Asn Ser | |
| 345 350 355 360 | |

GCT GTG GAG AGC TTG AGT TGC GGG ATT CCG GTG GTG GCG GTG CCG CAG 1152
 Ala Val Glu Ser Leu Ser Cys Gly Ile Pro Val Val Ala Val Pro Gln
 365 370 375
 TGG TTT GAT CAG ACG ACG AAT GCG AAG CTG ATT GAG GAT GCG TGG GGG 1200
 Trp Phe Asp Gln Thr Thr Asn Ala Lys Leu Ile Glu Asp Ala Trp Gly
 380 385 390
 ACA GGG GTG AGA GTG AGA ATG AAT GAA GGG GGT GGG GTT GAT GGA TGT 1248
 Thr Gly Val Arg Val Arg Met Asn Glu Gly Gly Gly Val Asp Gly Cys
 395 400 405
 GAG ATA GAA AGG TGT GTG GAG-ATG GTG ATG GAT GGG GGT GAC AAG ACC 1296
 Glu Ile Glu Arg Cys Val Glu Met Val Met Asp Gly Gly Asp Lys Thr
 410 415 420
 AAA CTA GTG AGA GAA AAT GCC ATC AAA TGG AAG ACT TTG GCC AGA CAA 1344
 Lys Leu Val Arg Glu Asn Ala Ile Lys Trp Lys Thr Leu Ala Arg Gln
 425 430 435 440
 GCC ATG GGA TAGGATGGAT CTTCACCTCAA CAATCTCAAC GCCTTTCTTC 1393
 Ala Met Gly
 443
 GTCAAGTTGC ACACTTTTAA TCTGCTCAAA CAGCGGTTCA AATAAATATC CCCTTCCACT 1453
 TAAAAAAAAA AAAAAAA 1470

配列 : 3

配列の長さ : 2 0 6 2

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 二本鎖

トポロジー : 直鎖状

起源

生物名 : バーベナ (Verbena hybrida)

組織の種類：花卉

直接の起源

ライブラリー名：cDNA library

クローン名：p S H G T 8

配列

```

ATTTTACCAA AAAAATAAAAA AAAAA ATG AGC AGA GCT CAC GTC CTC TTG GCC      52
                               Met Ser Arg Ala His Val Leu Leu Ala
                               1               5

ACA TTC CCA GCA CAG GGA CAC ATA AAT CCC GCC CTT CAA TTC GCC AAG      100
Thr Phe Pro Ala Gln Gly His Ile Asn Pro Ala Leu Gln Phe Ala Lys
   10               15               20               25

CGT CTC GCA AAT GCC GAC ATT CAA GTC ACA TTC TTC ACC AGC GTC TAC      148
Arg Leu Ala Asn Ala Asp Ile Gln Val Thr Phe Phe Thr Ser Val Tyr
               30               35               40

GCA TGG CGC CGC ATG TCC AGA ACC GCC GCT GGC TCA AAC GGG CTC ATC      196
Ala Trp Arg Arg Met Ser Arg Thr Ala Ala Gly Ser Asn Gly Leu Ile
               45               50               55

AAT TTT GTG TCG TTT TCC GAC GGG TAT GAC GAC GGG TTA CAG CCC GGA      244
Asn Phe Val Ser Phe Ser Asp Gly Tyr Asp Asp Gly Leu Gln Pro Gly
               60               65               70

GAC GAT GGG AAG AAC TAC ATG TCG GAG ATG AAA AGC AGA GGT ATA AAA      292
Asp Asp Gly Lys Asn Tyr Met Ser Glu Met Lys Ser Arg Gly Ile Lys
               75               80               85

GCC TTG AGC GAT ACT CTT GCA GCC AAT AAT GTC GAT CAA AAA AGC AGC      340
Ala Leu Ser Asp Thr Leu Ala Ala Asn Asn Val Asp Gln Lys Ser Ser
   90               95               100               105

```

| | |
|---|-----|
| AAA ATC ACG TTC GTG GTG TAC TCC CAC CTC TTT GCA TGG GCG GCC AAG | 388 |
| Lys Ile Thr Phe Val Val Tyr Ser His Leu Phe Ala Trp Ala Ala Lys | |
| 110 115 120 | |
| GTG GCG CGT GAG TTC CAT CTC CGG AGC GCG CTA CTC TGG ATT GAG CCA | 436 |
| Val Ala Arg Glu Phe His Leu Arg Ser Ala Leu Leu Trp Ile Glu Pro | |
| 125 130 135 | |
| GCT ACG GTG TTG GAT ATA TTT TAC TTT TAT TTC AAC GGC TAT AGC GAC | 484 |
| Ala Thr Val Leu Asp Ile Phe Tyr Phe Tyr Phe Asn Gly Tyr Ser Asp | |
| 140 145 150 | |
| GAA ATC GAT GCG GGT TCG GAT GCT ATT CAC TTG CCC GGA GGA CTC CCA | 532 |
| Glu Ile Asp Ala Gly Ser Asp Ala Ile His Leu Pro Gly Gly Leu Pro | |
| 155 160 165 | |
| GTG CTG GCC CAG CGT GAT TTA CCG TCT TTC CTT CTT CCT TCC ACG CAT | 580 |
| Val Leu Ala Gln Arg Asp Leu Pro Ser Phe Leu Leu Pro Ser Thr His | |
| 170 175 180 185 | |
| GAG AGA TTC CGT TCA CTG ATG AAG GAG AAA TTG GAA ACT TTA GAA GGT | 628 |
| Glu Arg Phe Arg Ser Leu Met Lys Glu Lys Leu Glu Thr Leu Glu Gly | |
| 190 195 200 | |
| GAA GAA AAA CCT AAG GTC TTG GTG AAC AGC TTT GAT GCG TTG GAG CCT | 676 |
| Glu Glu Lys Pro Lys Val Leu Val Asn Ser Phe Asp Ala Leu Glu Pro | |
| 205 210 215 | |
| GAT GCG CTC AAG GCC ATT GAT AAG TAC GAG ATG ATT GCA ATC GGG CCG | 724 |
| Asp Ala Leu Lys Ala Ile Asp Lys Tyr Glu Met Ile Ala Ile Gly Pro | |
| 220 225 230 | |
| TTG ATT CCT TCC GCA TTC TTG GAC GGT AAA GAT CCT TCG GAC AGG TCT | 772 |
| Leu Ile Pro Ser Ala Phe Leu Asp Gly Lys Asp Pro Ser Asp Arg Ser | |
| 235 240 245 | |

3 3

AGA GTG AGA GCT AAT GAG GAG GGT AGC GTC GTT GAT GGT GAT GAA ATT 1252
 Arg Val Arg Ala Asn Glu Glu Gly Ser Val Val Asp Gly Asp Glu Ile
 395 400 405
 AGG AGA TGT ATT GAG GAG GTT ATG GAT GGG GGA GAA AAG AGT AGG AAA 1300
 Arg Arg Cys Ile Glu Glu Val Met Asp Gly Gly Glu Lys Ser Arg Lys
 410 415 420 425
 CTT AGA GAG AGT GCT GGC AAG TGG AAG GAT TTG GCA AGA AAA GCT ATG 1348
 Leu Arg Glu Ser Ala Gly Lys Trp Lys Asp Leu Ala Arg Lys Ala Met
 430 435 440
 GAG GAA GAT GGA TCT TCA GTT AAC AAC CTC AAG GTC TTT CTT GAT GAG 1396
 Glu Glu Asp Gly Ser Ser Val Asn Asn Leu Lys Val Phe Leu Asp Glu
 445 450 455
 GTT GTA GGT ATC TAAAGACGTA AATGAGGTCC CCATAGGCAA AATTGCAAAT 1448
 Val Val Gly Ile
 460 461
 TTCATCTCGT AAGTTGAATA CTTTTTGGCT TTAATTTTGT TCGAGTTTGT TTTTCAAAT 1508
 TTATCTTGTA ATTTTACATT GAGTGTAAT TTAGTCTGAT TTAACTGGA AAAATATAAA 1568
 ATTCATTGTT GAGACTCTTC ATCAAAATCA TCTGATTTCC TTTATTGTCT TGGTCAAAT 1628
 TCTCATATCA ATTGGAAAAA ATAAATTTCA AAATCGTCCA ATTTTGAACC AAGAAAGAAG 1688
 TATAATTTGA CCAAATAAT AAAAGGATTC AAGTGATCTT GATGAAGTGT CTGAGCGACG 1748
 AGTTCTATAT TTTTCCACCG AATTTCTAAC GAGTTTTTGA ATTTTTTTTA GCCAAAATCG 1808
 GACTAACTTT GTACAAAATG AAAAGTTATA TGATGAAATT TTAAAAACA AACTCAGACA 1868
 ATAATAAAGC CCGAAAGTAG TAAAATTACC TGACGAAATT TGCAATTTTC CCTCCTATTT 1928
 TAATTTTTTTT GGTGTGTTTA ATAAATCGGT TATTTTACTT TTAATTAAAA TAAAAGTGAG 1988
 ATGCATGATA GCTTGGTGAG TATATATGAG TTGATGGTAA TGTACGATAT TTTCTAAAAA 2048
 AAAAAAAAAA AAAA 2062

配列 : 4

配列の長さ : 1 6 7 1

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 二本鎖

トポロジー : 直鎖状

起源

生物名 : トレニア

組織の種類 : 花卉

直接の起源

ライブラリー名 : cDNA library

クローン名 : p S T G T 5

配列

| | |
|---|-----|
| AACACATAAA AAAAAAATAA AAGAAGAAAT AATTAAAAAA AAAA ATG GTT AAC | 53 |
| Met Val Asn | |
| 1 | |
| AAA CGC CAT ATT CTA CTA GCA ACA TTC CCA GCA CAA GGC CAC ATA AAC | 101 |
| Lys Arg His Ile Leu Leu Ala Thr Phe Pro Ala Gln Gly His Ile Asn | |
| 5 10 15 | |
| CCT TCT CTC GAG TTC GCC AAA AGG CTC CTC AAC ACC GGA TAC GTC GAC | 149 |
| Pro Ser Leu Glu Phe Ala Lys Arg Leu Leu Asn Thr Gly Tyr Val Asp | |
| 20 25 30 35 | |
| CAA GTC ACA TTC TTC ACG AGT GTA TAC GCA TTG AGA CGC ATG CGC TTC | 197 |
| Gln Val Thr Phe Phe Thr Ser Val Tyr Ala Leu Arg Arg Met Arg Phe | |
| 40 45 50 | |
| GAA ACC GAT CCG AGC AGC AGA ATC GAT TTC GTG GCA TKT YCA GAT TCT | 245 |
| Glu Thr Asp Pro Ser Ser Arg Ile Asp Phe Val Ala X X Asp Ser | |
| 55 60 65 | |

| | |
|---|-----|
| TAC GAT GAT GGC TTA AAG AAA GGC GAC GAT GGC AAA AAC TAC ATG TCG | 293 |
| Tyr Asp Asp Gly Leu Lys Lys Gly Asp Asp Gly Lys Asn Tyr Met Ser | |
| 70 75 80 | |
| GAG ATG AGA AAG CGC GGA ACG AAG GCC TTA AAG GAC ACT CTT ATT AAG | 341 |
| Glu Met Arg Lys Arg Gly Thr Lys Ala Leu Lys Asp Thr Leu Ile Lys | |
| 85 90 95 | |
| CTC AAC GAT GCT GCG ATG GGA AGT GAA TGT TAC AAT CGC GTG AGC TTT | 389 |
| Leu Asn Asp Ala Ala Met Gly Ser Glu Cys Tyr Asn Arg Val Ser Phe | |
| 100 105 110 115 | |
| GTG GTG TAC TCT CAT CTA TTT TCG TGG GCA GCT GAA GTG GCG CGT GAA | 437 |
| Val Val Tyr Ser His Leu Phe Ser Trp Ala Ala Glu Val Ala Arg Glu | |
| 120 125 130 | |
| GTC GAC GTG CCG AGT GCC CTT CTT TGG ATT GAA CCG GCT ACG GTT TTC | 485 |
| Val Asp Val Pro Ser Ala Leu Leu Trp Ile Glu Pro Ala Thr Val Phe | |
| 135 140 145 | |
| GAT GTG TAC TAT TTT TAC TTC AAT GGG TAT GCC GAT GAT ATC GAT GCG | 533 |
| Asp Val Tyr Tyr Phe Tyr Phe Asn Gly Tyr Ala Asp Asp Ile Asp Ala | |
| 150 155 160 | |
| GGC TCA GAT CAA ATC CAA CTG CCC AAT CTT CCG CAG CTC TCC AAG CAA | 581 |
| Gly Ser Asp Gln Ile Gln Leu Pro Asn Leu Pro Gln Leu Ser Lys Gln | |
| 165 170 175 | |
| GAT CTC CCC TCT TTC CTA CTC CCT TCG AGC CCC GCG AGA TTC CGA ACC | 629 |
| Asp Leu Pro Ser Phe Leu Leu Pro Ser Ser Pro Ala Arg Phe Arg Thr | |
| 180 185 190 195 | |
| CTA ATG AAA GAA AAG TTC GAC ACG CTC GAC AAA GAA CCG AAA GCG AAG | 677 |
| Leu Met Lys Glu Lys Phe Asp Thr Leu Asp Lys Glu Pro Lys Ala Lys | |
| 200 205 210 | |

| | |
|---|------|
| GTC TTG ATA AAC ACG TTC GAC GCA TTA GAA ACC GAA CAA CTC AAA GCC | 725 |
| Val Leu Ile Asn Thr Phe Asp Ala Leu Glu Thr Glu Gln Leu Lys Ala | |
| 215 220 225 | |
| ATC GAC AGG TAT GAA CTA ATA TCC ATC GGC CCA TTA ATC CCA TCA TCG | 773 |
| Ile Asp Arg Tyr Glu Leu Ile Ser Ile Gly Pro Leu Ile Pro Ser Ser | |
| 230 235 240 | |
| ATA TTC TCA GAT GGC AAC GAC CCC TCA TCA AGC AAC AAA TCC TAC GGT | 821 |
| Ile Phe Ser Asp Gly Asn Asp Pro Ser Ser Ser Asn Lys Ser Tyr Gly | |
| 245 250 255 | |
| GGA GAC CTC TTC AGA AAA GCC GAT GAA ACT TAC ATG GAC TGG CTA AAC | 869 |
| Gly Asp Leu Phe Arg Lys Ala Asp Glu Thr Tyr Met Asp Trp Leu Asn | |
| 260 265 270 275 | |
| TCA AAA CCC GAA TCA TCG GTC GTT TAC GTT TCG TTC GGG AGC CTC CTG | 917 |
| Ser Lys Pro Glu Ser Ser Val Val Tyr Val Ser Phe Gly Ser Leu Leu | |
| 280 285 290 | |
| AGG CTC CCG AAA CCC CAA ATG GAA GAA ATA GCA ATA GGG CTT TCA GAC | 965 |
| Arg Leu Pro Lys Pro Gln Met Glu Glu Ile Ala Ile Gly Leu Ser Asp | |
| 295 300 305 | |
| ACC AAA TCG CCA GTT CTC TGG GTG ATA AGA AGA AAC GAA GAG GGC GAC | 1013 |
| Thr Lys Ser Pro Val Leu Trp Val Ile Arg Arg Asn Glu Glu Gly Asp | |
| 310 315 320 | |
| GAA CAA GAG CAA GCA GAA GAA GAA GAG AAG CTG CTG AGC TTC TTT GAT | 1061 |
| Glu Gln Glu Gln Ala Glu Glu Glu Glu Lys Leu Leu Ser Phe Phe Asp | |
| 325 330 335 | |
| CGT CAC GGA ACT GAA CGA CTC GGG AAA ATC GTG ACA TGG TGC TCA CAA | 1109 |
| Arg His Gly Thr Glu Arg Leu Gly Lys Ile Val Thr Trp Cys Ser Gln | |
| 340 345 350 355 | |

| | |
|---|------|
| TTG GAT GTT CTG ACG CAT AAG TCG GTG GGA TGC TTC GTG ACG CAT TGC | 1157 |
| Leu Asp Val Leu Thr His Lys Ser Val Gly Cys Phe Val Thr His Cys | |
| 360 365 370 | |
| GGT TGG AAT TCT GCT ATC GAG AGC CTG GCT TGT GGT GTG CCC GTG GTG | 1205 |
| Gly Trp Asn Ser Ala Ile Glu Ser Leu Ala Cys Gly Val Pro Val Val | |
| 375 380 385 | |
| TGC TTT CCT CAA TGG TTC GAT CAA GGG ACT AAT GCG AAG ATG ATC GAA | 1253 |
| Cys Phe Pro Gln Trp Phe Asp Gln Gly Thr Asn Ala Lys Met Ile Glu | |
| 390 395 400 | |
| GAT GTG TGG AGG AGT GGT GTG AGA GTC AGA GTG AAT GAG GAA GGC GGC | 1301 |
| Asp Val Trp Arg Ser Gly Val Arg Val Arg Val Asn Glu Glu Gly Gly | |
| 405 410 415 | |
| GTT GTT GAT AGG CGT GAG ATT AAG AGG TGC GTC TCG GAG GTT ATA AAG | 1349 |
| Val Val Asp Arg Arg Glu Ile Lys Arg Cys Val Ser Glu Val Ile Lys | |
| 420 425 430 435 | |
| AGT CGA GAG TTG AGA GAA AGC GCA ATG ATG TGG AAG GGT TTG GCT AAA | 1397 |
| Ser Arg Glu Leu Arg Glu Ser Ala Met Met Trp Lys Gly Leu Ala Lys | |
| 440 445 450 | |
| GAA GCT ATG GAT GAA GAA CGT GGA TCA TCA ATG AAC AAT CTG AAG AAT | 1445 |
| Glu Ala Met Asp Glu Glu Arg Gly Ser Ser Met Asn Asn Leu Lys Asn | |
| 455 460 465 | |
| TTT ATT ACT AGG ATT ATT AAT GAA AAT GCC TCA TAAGTTGTAC | 1488 |
| Phe Ile Thr Arg Ile Ile Asn Glu Asn Ala Ser | |
| 470 475 478 | |
| TATATATGTT ATTATTGTTG TTATGGACGT CGAATTAAGT ATTAGTTAAA TGATATGTAT | 1548 |
| TTAGAGGAAG GCCAAAACGG GCTACACCCG GCAGGCCACG GGTTCGAAAA GCCCGCCATG | 1608 |
| ATTTAAAATA TATATTTTAA AATAAATATT TTCTACTATT AACTAAAAA AAAAAAAAAA | 1668 |

AAA

1671

配列 : 5

配列の長さ : 1 4 3 7

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 二本鎖

トポロジー : 直鎖状

起源

生物名 : シソ (*Perilla frutescens*)

組織の種類 : 葉

直接の起源

ライブラリー名 : cDNA library

クローン名 : p 8 R 6

配列

| | |
|--|-----|
| TTCAAACTC ATAACGTGAT TGAGCTAATG TGCACATCTT CCTCTTCAAA GTCTACAGTG | 60 |
| TCATCCTACC AGCATCATCA TGATCAATCT CTTTATAATG AGGAGAATGG AGTAACAAGG | 120 |
| AGTGGGTTTT GTTACTCAGC TTCAACCTAC GTACGTACTA CTA CTGACTC AACTCTCAAG | 180 |
| AGAATGAATA TAATATATAA TGGGCGATAG ATCTTTGTAG ATATGTAGGT GTAGCCTGCA | 240 |
| GGTGGTTAAT TAATTTCCGG TGTGGGAAAA TAAATAAATA AATAAATATA GCG ATG AGC | 299 |

Met Ser

1

| | |
|---|-----|
| AGC AGC AGC AGC AGA AGG TGG AGA GAG AAT GAG GGG ATG CGA AGG ACA | 347 |
| Ser Ser Ser Ser Arg Arg Trp Arg Glu Asn Glu Gly Met Arg Arg Thr | |

5

10

15

| | |
|---|-----|
| TTG CTG GGG TTG GGT TTG GGG CAG TTG GTT TCT TTC GAT TTG GCT ATC | 395 |
| Leu Leu Gly Leu Gly Leu Gly Gln Leu Val Ser Phe Asp Leu Ala Ile | |

20

25

30

| | |
|---|-----|
| ATG ACC TTT TCT GCT TCT TTG GTT TCA ACC ACA GTG GAT GCA CCA CTT | 443 |
|---|-----|

Met Thr Phe Ser Ala Ser Leu Val Ser Thr Thr Val Asp Ala Pro Leu
 35 40 45 50
 ACT ATG TCG TTC ACT ACA TAC ACT GTT GTG GCC CTG CTC TAT GGA ACC 491
 Thr Met Ser Phe Thr Thr Tyr Thr Val Val Ala Leu Leu Tyr Gly Thr
 55 60 65
 ATC TTG CTT TAC CGC CGC CAC AAA TTC TTG GTT CCA TGG TAC TGG TAT 539
 Ile Leu Leu Tyr Arg Arg His Lys Phe Leu Val Pro Trp Tyr Trp Tyr
 70 75 80
 GCT CTC CTG GGG TTC GTG GAC GTC CAC GGC AAT TAT CTT GTT AAT AAA 587
 Ala Leu Leu Gly Phe Val Asp Val His Gly Asn Tyr Leu Val Asn Lys
 85 90 95
 GCA TTC GAG TTG ACA TCG ATT ACG AGT GTG AGC ATA CTG GAT TGT TGG 635
 Ala Phe Glu Leu Thr Ser Ile Thr Ser Val Ser Ile Leu Asp Cys Trp
 100 105 110
 ACA ATC GTG TGG TCC ATC ATC TTT ACA TGG ATG TTC CTA GGC ACA AAA 683
 Thr Ile Val Trp Ser Ile Ile Phe Thr Trp Met Phe Leu Gly Thr Lys
 115 120 125 130
 TAC TCT GTA TAC CAG TTT GTC GGT GCT GCT ATT TGT GTA GGA GGC CTC 731
 Tyr Ser Val Tyr Gln Phe Val Gly Ala Ala Ile Cys Val Gly Gly Leu
 135 140 145
 CTC CTC GTG CTT CTT TCC GAC TCA GGG GTC ACT GCT GCT GGT TCG AAT 779
 Leu Leu Val Leu Leu Ser Asp Ser Gly Val Thr Ala Ala Gly Ser Asn
 150 155 160
 CCT CTT TTG GGT GAT TTT CTT GTC ATA ACA GGC TCT ATT TTG TTC ACA 827
 Pro Leu Leu Gly Asp Phe Leu Val Ile Thr Gly Ser Ile Leu Phe Thr
 165 170 175

CTC AGC ACT GTT GGT CAG GAA TAC TGC GTG AAG AGG AAA GAT CGT ATT 875
 Leu Ser Thr Val Gly Gln Glu Tyr Cys Val Lys Arg Lys Asp Arg Ile
 180 185 190
 GAA GTA GTA GCA ATG ATC GGT GTA TTT GGT ATG CTC ATC AGT GCA ACC 923
 Glu Val Val Ala Met Ile Gly Val Phe Gly Met Leu Ile Ser Ala Thr
 195 200 205 210
 GAG ATT ACT GTG CTG GAG AGG AAT GCC CTC TCA TCA ATG CAG TGG TCT 971
 Glu Ile Thr Val Leu Glu Arg Asn Ala Leu Ser Ser Met Gln Trp Ser
 215 220 225
 ACT GGA CTT TTG GCA GCC TAT GTT GTT TAT GCA CTG TCC AGC TTC CTC 1019
 Thr Gly Leu Leu Ala Ala Tyr Val Val Tyr Ala Leu Ser Ser Phe Leu
 230 235 240
 TTC TGC ACA CTC ACC CCT TTT CTT CTC AAG ATG AGT GGC GCT GCA TTT 1067
 Phe Cys Thr Leu Thr Pro Phe Leu Leu Lys Met Ser Gly Ala Ala Phe
 245 250 255
 TTC AAT CTT TCC ATG CTT ACA TCT GAT ATG TGG GCT GTT GCA ATT AGG 1115
 Phe Asn Leu Ser Met Leu Thr Ser Asp Met Trp Ala Val Ala Ile Arg
 260 265 270
 ACA TTC ATA TAC AAC CAG GAG GTT GAT TGG TTA TAC TAT TTG GCC TTT 1163
 Thr Phe Ile Tyr Asn Gln Glu Val Asp Trp Leu Tyr Tyr Leu Ala Phe
 275 280 285 290
 TGT CTC GTT GTT GTT GGA ATA TTC ATA TAT ACA AAA ACA GAG AAG GAT 1211
 Cys Leu Val Val Val Gly Ile Phe Ile Tyr Thr Lys Thr Glu Lys Asp
 295 300 305
 CCT AAC AAT ACG AGA GCC CTT GAG AAT GGA AAC TTG GAT CAT GAA TAT 1259
 Pro Asn Asn Thr Arg Ala Leu Glu Asn Gly Asn Leu Asp His Glu Tyr
 310 315 320

AGT CTC CTT GAG GAT CAA GAT GAC ACA CCA AGA AAA CCA TAGCTAGCTT 1308

Ser Leu Leu Glu Asp Gln Asp Asp Thr Pro Arg Lys Pro

325

330

335

TGCCCACAAT CTTTTCATCA ACAGTTTTAA ATAATTCGTG AGGGGGAGAG AGATCGAGAT 1368

ACTAATTAAT GGACGTCTAT TATATAGTTG GAGGTTTTTG TTTTATTTAT TTATTTGAGT 1428

AAAAAAAAA 1437

配列 : 6

配列の長さ : 2 1 0 5

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 二本鎖

トポロジー : 直鎖状

起源

生物名 : ペチュニア

組織の種類 : 花卉

直接の起源

ライブラリー名 : cDNA library

クローン名 : p S P G T 1

配列

AGTGAGCGCA ACGCAATTAA TGTGAGTTAG CTCACTCATT AGGCACCCCA GGCTTTACAC 60

TTTATGCTTC CGGCTCGTAT GTTGTGTGGA ATTGTGAGCG GATAACAATT TCACACAGGA 120

AACAGCTATG ACCATGATTA CGCCAAGCTC GAAATTAACC CTCACTAAAG GGAACAAAAG 180

CTGGAGCTCC ACGCGGTGGC GGCCGCTCTA GAACTAGTGG ATCCCCCGGG CTGCAGGAAT 240

TCCGTTGCTG TCGCCACAAT TTACAAACCA AGAAATTAAG CATCCCTTTC CCCCCCTTAA 300

AAAACATACA AGTTTTTAAT TTTTCACTAA GCAAGAAAAT ATG GTG CAG CCT CAT GTC 358

Met Val Gln Pro His Val

1

5

| | |
|---|-----|
| ATC TTA ACA ACA TTT CCA GCA CAA GGC CAT ATT AAT CCA GCA CTT CAA | 406 |
| Ile Leu Thr Thr Phe Pro Ala Gln Gly His Ile Asn Pro Ala Leu Gln | |
| 10 15 20 | |
| TTT GCC AAG AAT CTT GTC AAG ATG GGC ATA GAA GTG ACA TTT TCT ACA | 454 |
| Phe Ala Lys Asn Leu Val Lys Met Gly Ile Glu Val Thr Phe Ser Thr | |
| 25 30 35 | |
| AGC ATT TAT GCC CAA AGC CGT ATG GAT GAA AAA TCC ATT CTT AAT GCA | 502 |
| Ser Ile Tyr Ala Gln Ser Arg Met Asp Glu Lys Ser Ile Leu Asn Ala | |
| 40 45 50 | |
| CCA AAA GGA TTG AAT TTC ATT CCA TTT TCC GAT GGC TTT GAT GAA GGT | 550 |
| Pro Lys Gly Leu Asn Phe Ile Pro Phe Ser Asp Gly Phe Asp Glu Gly | |
| 55 60 65 70 | |
| TTT GAT CAT TCA AAA GAC CCT GTA TTT TAC ATG TCA CAA CTT CGT AAA | 598 |
| Phe Asp His Ser Lys Asp Pro Val Phe Tyr Met Ser Gln Leu Arg Lys | |
| 75 80 85 | |
| TGT GGA AGT GAA ACT GTC AAA AAA ATA ATT CTC ACT TGC TCT GAA AAT | 646 |
| Cys Gly Ser Glu Thr Val Lys Lys Ile Ile Leu Thr Cys Ser Glu Asn | |
| 90 95 100 | |
| GGA CAG CCT ATA ACT TGC CTA CTT TAC TCC ATT TTC CTT CCT TGG GCA | 694 |
| Gly Gln Pro Ile Thr Cys Leu Leu Tyr Ser Ile Phe Leu Pro Trp Ala | |
| 105 110 115 | |
| GCA GAG GTA GCA CGT GAA GTT CAC ATC CCT TCT GCT CTT CTT TGG AGT | 742 |
| Ala Glu Val Ala Arg Glu Val His Ile Pro Ser Ala Leu Leu Trp Ser | |
| 120 125 130 | |
| CAA CCA GCA ACA ATA TTG GAC ATA TAT TAC TTC AAC TTT CAT GGA TAT | 790 |
| Gln Pro Ala Thr Ile Leu Asp Ile Tyr Tyr Phe Asn Phe His Gly Tyr | |
| 135 140 145 150 | |

| | |
|---|------|
| GAA AAA GCT ATG GCT AAT GAA TCC AAT GAT CCA AAT TGG TCC ATT CAA | 838 |
| Glu Lys Ala Met Ala Asn Glu Ser Asn Asp Pro Asn Trp Ser Ile Gln | |
| 155 160 165 | |
| CTT CCC GGG CTT CCA CTA CTG GAA ACT CGA GAT CTT CCT TCA TTT TTA | 886 |
| Leu Pro Gly Leu Pro Leu Leu Glu Thr Arg Asp Leu Pro Ser Phe Leu | |
| 170 175 180 | |
| CTT CCT TAT GGT GCA AAA GGG AGT CTT CGA GTT GCA CTT CCA CCA TTC | 934 |
| Leu Pro Tyr Gly Ala Lys Gly Ser Leu Arg Val Ala Leu Pro Pro Phe | |
| 185 190 195 | |
| AAA GAA TTG ATA GAC ACA TTA GAT GCT GAA ACC ACT CCT AAG ATT CTT | 982 |
| Lys Glu Leu Ile Asp Thr Leu Asp Ala Glu Thr Thr Pro Lys Ile Leu | |
| 200 205 210 | |
| GTG AAT ACA TTT GAT GAA TTA GAG CCT GAG GCA CTC AAT GCA ATT GAA | 1030 |
| Val Asn Thr Phe Asp Glu Leu Glu Pro Glu Ala Leu Asn Ala Ile Glu | |
| 215 220 225 230 | |
| GGT TAT AAG TTT TAT GGA ATT GGA CCG TTG ATT CCT TCT GCT TTC TTG | 1078 |
| Gly Tyr Lys Phe Tyr Gly Ile Gly Pro Leu Ile Pro Ser Ala Phe Leu | |
| 235 240 245 | |
| GGT GGA AAT GAC CCT TTA GAT GCT TCA TTT GGT GGT GAT CTT TTT CAA | 1126 |
| Gly Gly Asn Asp Pro Leu Asp Ala Ser Phe Gly Gly Asp Leu Phe Gln | |
| 250 255 260 | |
| AAT TCA AAT GAC TAT ATG GAA TGG TTA AAC TCA AAG CCA AAT TCA TCA | 1174 |
| Asn Ser Asn Asp Tyr Met Glu Trp Leu Asn Ser Lys Pro Asn Ser Ser | |
| 265 270 275 | |
| GTT GTT TAT ATA TCT TTT GGG AGT CTA ATG AAT CCA TCT ATT AGC CAA | 1222 |
| Val Val Tyr Ile Ser Phe Gly Ser Leu Met Asn Pro Ser Ile Ser Gln | |
| 280 285 290 | |

4 5

TGG AAA GAA TTG GCT AGA GAA GCT GTG AAG GAA GGT GGA TCT TCA CAC 1702
 Trp Lys Glu Leu Ala Arg Glu Ala Val Lys Glu Gly Gly Ser Ser His
 440 445 450
 AAG AAT TTA AAG GCT TTT ATT GAT GAT GTT GCC AAA GGG TTT TAATATTTAC 1754
 Lys Asn Leu Lys Ala Phe Ile Asp Asp Val Ala Lys Gly Phe
 455 460 465 468
 AGGCTTTTGC CGTGATATTA CTTCCCCTAG TTGGCGATTG ACTCTTTGTG GACTTGCTTG 1814
 ACAAAAAACT GAGGGAATGT GCTAAGACAC GCTAATGCTT TAAGAAGTCA TTTCCAAGGC 1874
 TTGAAGCCTG CTTTTAAAC TTATTAGCCA GTAATCTATA GGGTTCTCTT CTATTTTTCT 1934
 CTGTCTCTCT TTTTAGCCTT TTTCTTTCCA AGGTTTAAGA ATAGCGTGAA CATAGCTTAG 1994
 TACGTAGTCT TGGTATCTCT ATCTTACCAA GTGCAAGATT ATGCTTATGC TGTCTCCTA 2054
 AATTTCTTAA TAAAATGCAA GATGAAAAAG TACAAAAAAA AAAAAAAAAA A 2105

請 求 の 範 囲

1. フラボノイドの5位に糖を転移する活性を有する蛋白質をコードする遺伝子。

2. 配列番号7～10又は12のいずれかに記載のアミノ酸配列を有しフラボノイドの5位に糖を転移する活性を有する蛋白質、あるいはそれらのアミノ酸配列に対して1個又は複数個のアミノ酸の付加、欠失及び／又は他のアミノ酸による置換により修飾されているアミノ酸配列を有し且つフラボノイドの5位に糖を転移する活性を維持している蛋白質をコードする請求項1記載の遺伝子。

3. 配列番号7～10又は12のいずれかに記載のアミノ酸配列に対して30%以上の相同性を有するアミノ酸配列を有し、且つフラボノイドの5位に糖を転移する活性を有する蛋白質をコードする請求項1記載の遺伝子。

4. 配列番号7～10又は12のいずれかに記載のアミノ酸配列に対して50%以上の相同性を有するアミノ酸配列を有し、且つフラボノイドの5位に糖を転移する活性を有する蛋白質をコードする請求項1記載の遺伝子。

5. 配列番号7～10又は12のいずれかに記載のアミノ酸配列をコードする塩基配列の一部又は全部に対して、5×SSC、50℃の条件下でハイブリダイズすることができ、且つフラボノイドの5位に糖を転移する活性を有する蛋白質をコードする請求項1記載の遺伝子。

6. 請求項1～5のいずれか1項に記載の遺伝子を含んでなるベクター。

7. 請求項6に記載のベクターにより形質転換された宿主。

8. 請求項1～5のいずれか1項に記載の遺伝子によってコード

される蛋白質。

9. 請求項7に記載の宿主を培養し、又は成育させ、そして該宿主からフラボノイドの5位に糖を転移する活性を有する蛋白質を採取することを特徴とする該蛋白質の製造方法。

10. 請求項1～5のいずれか1項に記載の遺伝子が導入された植物もしくはこれと同じ性質を有するその子孫又はそれらの組織。

11. 請求項10に記載の植物又はこれと同じ性質を有するその子孫の切花。

配 列 表

SEQUENCE LISTING

< 1 1 0 > Suntory Limited

< 1 2 0 > Gene Coding for Protein Having Sugar-Transfer Activity

< 1 3 0 > STY-F846-PCT

< 1 5 0 > JP PH9-200571

< 1 5 1 > 1997-07-25

< 1 6 0 > 1 1

< 2 1 0 > 1 -

< 2 1 1 > 1 5 0 7

< 2 1 2 > DNA

< 2 1 3 > Perilla frutescens

< 4 0 0 > 1

gaaaatttcc acaaaa atg gtc cgc cgc cgc gtg ctg cta gca acg ttt 49

Met Val Arg Arg Arg Val Leu Leu Ala Thr Phe

1 5 10

cct gcg caa ggc cac ata aat ccc gcc ctc caa ttc gcc aag aga ctc 97

Pro Ala Gln Gly His Ile Asn Pro Ala Leu Gln Phe Ala Lys Arg Leu

15 20 25

cta aaa gcc ggc act gac gtc aca ttt ttc acg agc gtt tat gca tgg 145

Leu Lys Ala Gly Thr Asp Val Thr Phe Phe Thr Ser Val Tyr Ala Trp

30 35 40

cgc cgc atg gcc aac aca gcc tcc gcc gct gcc gga aac cca ccg ggc 193

Arg Arg Met Ala Asn Thr Ala Ser Ala Ala Ala Gly Asn Pro Pro Gly

45 50 55

ctc gac ttc gtg gcg ttc tcc gac ggc tac gac gac ggg ctg aag ccc 241
 Leu Asp Phe Val Ala Phe Ser Asp Gly Tyr Asp Asp Gly Leu Lys Pro
 60 65 70 75
 tgc ggc gac ggg aag cgc tac atg tcc gag atg aaa gcc cgc ggc tcc 289
 Cys Gly Asp Gly Lys Arg Tyr Met Ser Glu Met Lys Ala Arg Gly Ser
 80 85 90
 gag gcc tta aga aac ctc ctt ctc aac aac cac gac gtc acg ttc gtc 337
 Glu Ala Leu Arg Asn Leu Leu Leu Asn Asn His Asp Val Thr Phe Val
 95 100 105
 gtc tac tcc cac ctc ttt gca tgg gcg gcg gag gtg gcg cgt gag tcc 385
 Val Tyr Ser His Leu Phe Ala Trp Ala Ala Glu Val Ala Arg Glu Ser
 110 115 120
 cag gtc ccg agc gcc ctt ctc tgg gtc gag ccc gcc acc gtg ctg tgc 433
 Gln Val Pro Ser Ala Leu Leu Trp Val Glu Pro Ala Thr Val Leu Cys
 125 130 135
 ata tat tac ttc tac ttc aac ggc tac gca gac gag atc gac gcc ggt 481
 Ile Tyr Tyr Phe Tyr Phe Asn Gly Tyr Ala Asp Glu Ile Asp Ala Gly
 140 145 150 155
 tcc gac gaa att cag ctc cct cgg ctt cca ccc ctg gag cag cgc agt 529
 Ser Asp Glu Ile Gln Leu Pro Arg Leu Pro Pro Leu Glu Gln Arg Ser
 160 165 170
 ctt ccg acc ttt ctg ctg ccg gag aca ccg gag aga ttc cgg ttg atg 577
 Leu Pro Thr Phe Leu Leu Pro Glu Thr Pro Glu Arg Phe Arg Leu Met
 175 180 185
 atg aag gag aag ctg gaa act tta gac ggt gaa gag aag gcg aaa gtg 625
 Met Lys Glu Lys Leu Glu Thr Leu Asp Gly Glu Glu Lys Ala Lys Val
 190 195 200

| | |
|---|------|
| ttg gtg aac acg ttt gat gcg ttg gag ccc gat gca ctc acg gct att | 673 |
| Leu Val Asn Thr Phe Asp Ala Leu Glu Pro Asp Ala Leu Thr Ala Ile | |
| 205 210 215 | |
| gat agg tat gag ttg atc ggg atc ggg ccg ttg att ccc tcc gcc ttc | 721 |
| Asp Arg Tyr Glu Leu Ile Gly Ile Gly Pro Leu Ile Pro Ser Ala Phe | |
| 220 225 230 235 | |
| ttg gac ggc gga gat ccc tcc gaa acg tct tac ggc ggc gat ctt ttc | 769 |
| Leu Asp Gly Gly Asp Pro Ser Glu Thr Ser Tyr Gly Gly Asp Leu Phe | |
| 240 245 250 | |
| gaa aaa tcg gag gag aat aac tgc gtg gag tgg ttg gac acg aag ccg | 817 |
| Glu Lys Ser Glu Glu Asn Asn Cys Val Glu Trp Leu Asp Thr Lys Pro | |
| 255 260 265 | |
| aaa tct tcg gtg gtg tat gtg tcg ttt ggg agc gtt ttg agg ttt cca | 865 |
| Lys Ser Ser Val Val Tyr Val Ser Phe Gly Ser Val Leu Arg Phe Pro | |
| 270 275 280 | |
| aag gca caa atg gaa gag att ggg aaa ggg cta tta gcc tgc gga agg | 913 |
| Lys Ala Gln Met Glu Glu Ile Gly Lys Gly Leu Leu Ala Cys Gly Arg | |
| 285 290 295 | |
| ccg ttt tta tgg atg ata cga gaa cag aag aat gac gac ggc gaa gaa | 961 |
| Pro Phe Leu Trp Met Ile Arg Glu Gln Lys Asn Asp Asp Gly Glu Glu | |
| 300 305 310 315 | |
| gaa gaa gaa gag ttg agt tgc att ggg gaa ttg aaa aaa atg ggg aaa | 1009 |
| Glu Glu Glu Glu Leu Ser Cys Ile Gly Glu Leu Lys Lys Met Gly Lys | |
| 320 325 330 | |
| ata gtt tcg tgg tgc tcg cag ttg gag gtt ctg gcg cac cct gcg ttg | 1057 |
| Ile Val Ser Trp Cys Ser Gln Leu Glu Val Leu Ala His Pro Ala Leu | |
| 335 340 345 | |

gga tgt ttc gtg acg cat tgt ggg tgg aac tcg gct gtg gag agc ttg 1105
 Gly Cys Phe Val Thr His Cys Gly Trp Asn Ser Ala Val Glu Ser Leu
 350 355 360
 agt tgc ggg gtt ccg gtg gtg gcg gtg ccg cag tgg ttt gat cag acg 1153
 Ser Cys Gly Val Pro Val Val Ala Val Pro Gln Trp Phe Asp Gln Thr
 365 370 375
 acg aat gcg aag ctg att gag gat gcg tgg ggg aca ggg gtg aga gtg 1201
 Thr Asn Ala Lys Leu Ile Glu Asp Ala Trp Gly Thr Gly Val Arg Val
 380 385 390 395
 aga atg aat gaa ggg ggt ggg gtt gat gga tct gag ata gag agg tgt 1249
 Arg Met Asn Glu Gly Gly Gly Val Asp Gly Ser Glu Ile Glu Arg Cys
 400 405 410
 gtg gag atg gtg atg gat ggg ggt gag aag agc aaa cta gtg aga gaa 1297
 Val Glu Met Val Met Asp Gly Gly Glu Lys Ser Lys Leu Val Arg Glu
 415 420 425
 aat gcc ata aaa tgg aag act ttg gcc aga gaa gcc atg gga gag gat 1345
 Asn Ala Ile Lys Trp Lys Thr Leu Ala Arg Glu Ala Met Gly Glu Asp
 430 435 440
 gga tct tca ctc aag aat ctc aac gcc ttt ctt cat caa gtt gca cgt 1393
 Gly Ser Ser Leu Lys Asn Leu Asn Ala Phe Leu His Gln Val Ala Arg
 445 450 455
 gct taatacaca aatggctttc cacttttaat ctactcaa accggttcaa 1446
 Ala
 460
 ataaatatcc ccttcactt ctttctattt cactatcaca tttataattt tagtaacaaa 1506
 a 1507
 < 2 1 0 > 2

< 2 1 1 > 1 4 7 0

< 2 1 2 > D N A

< 2 1 3 > *Perilla frutescens*

< 4 0 0 > 2

accaaaccaa aacaaaattt ccacaaaa atg gtc cgc cgc cgc gtg ctg cta 48

Met Val Arg Arg Arg Val Leu Leu

1

5

gca acg ttt ccg gcg caa ggc cac ata aat ccc gcc ctc caa ttc gcc 96

Ala Thr Phe Pro Ala Gln Gly His Ile Asn Pro Ala Leu Gln Phe Ala

10

15

20

aag aga ctc cta aaa gcc ggc act gac gtc acg ttt ttc acg agc gtt 144

Lys Arg Leu Leu Lys Ala Gly Thr Asp Val Thr Phe Phe Thr Ser Val

25

30

35

40

tat gca tgg cgc cgc atg gcc aac aca gcc tcc gcc gct gcc gga aac 192

Tyr Ala Trp Arg Arg Met Ala Asn Thr Ala Ser Ala Ala Ala Gly Asn

45

50

55

cca ccg ggc ctc gac ttc gtg gcg ttc tcc gac ggc tac gac gac ggg 240

Pro Pro Gly Leu Asp Phe Val Ala Phe Ser Asp Gly Tyr Asp Asp Gly

60

65

70

ctg aag ccc ggc ggc gac ggg aag cgc tac atg tcc gag atg aaa gcc 288

Leu Lys Pro Gly Gly Asp Gly Lys Arg Tyr Met Ser Glu Met Lys Ala

75

80

85

cgc ggc tcc gag gcc tta aga aac ctc ctt ctc aac aac gac gac gtc 336

Arg Gly Ser Glu Ala Leu Arg Asn Leu Leu Leu Asn Asn Asp Asp Val

90

95

100

act ttc gtc gtc tac tcc cac ctc ttt gca tgg gcg gcg gag gtg gcg 384
 Thr Phe Val Val Tyr Ser His Leu Phe Ala Trp Ala Ala Glu Val Ala
 105 110 115 120
 cgt ttg tcc cac gtc ccg acc gcc ctt ctc tgg gtc gag ccc gcc acc 432
 Arg Leu Ser His Val Pro Thr Ala Leu Leu Trp Val Glu Pro Ala Thr
 125 130 135
 gtg ctg tgc ata tac cac ttc tac ttc aac ggc tac gca gac gag atc 480
 Val Leu Cys Ile Tyr His Phe Tyr Phe Asn Gly Tyr Ala Asp Glu Ile
 140 145 150
 gac gcc ggt tcc aat gaa att cag ctc cct cgg ctt cca tcc ctg gag 528
 Asp Ala Gly Ser Asn Glu Ile Gln Leu Pro Arg Leu Pro Ser Leu Glu
 155 160 165
 cag cgc agt ctt ccg acg ttt ctg ctg cct gcg acg ccg gag aga ttc 576
 Gln Arg Ser Leu Pro Thr Phe Leu Leu Pro Ala Thr Pro Glu Arg Phe
 170 175 180
 cgg ttg atg atg aag gag aag ctg gaa act tta gac ggt gaa gag aag 624
 Arg Leu Met Met Lys Glu Lys Leu Glu Thr Leu Asp Gly Glu Glu Lys
 185 190 195 200
 gcg aaa gta ttg gtg aac acg ttt gat gcg ttg gag ccc gat gca ctc 672
 Ala Lys Val Leu Val Asn Thr Phe Asp Ala Leu Glu Pro Asp Ala Leu
 205 210 215
 acg gct att gat agg tat gag ttg atc ggg atc ggg ccg ttg att ccc 720
 Thr Ala Ile Asp Arg Tyr Glu Leu Ile Gly Ile Gly Pro Leu Ile Pro
 220 225 230
 tcc gcc ttc ttg gac ggc gaa gat ccc tcc gaa acg tct tac ggc ggc 768
 Ser Ala Phe Leu Asp Gly Glu Asp Pro Ser Glu Thr Ser Tyr Gly Gly
 235 240 245

| | |
|---|------|
| gat ctt ttc gaa aaa tcg gag gag aat aac tgc gtg gag tgg ttg aac | 816 |
| Asp Leu Phe Glu Lys Ser Glu Glu Asn Asn Cys Val Glu Trp Leu Asn | |
| 250 255 260 | |
| tcg aag ccg aaa tct tcg gtg gtg tat gtg tcg ttt ggg agc gtt ttg | 864 |
| Ser Lys Pro Lys Ser Ser Val Val Tyr Val Ser Phe Gly Ser Val Leu | |
| 265 270 275 280 | |
| agg ttt cca aag gca caa atg gaa gag att ggg aaa ggg cta tta gcc | 912 |
| Arg Phe Pro Lys Ala Gln Met Glu Glu Ile Gly Lys Gly Leu Leu Ala | |
| 285 290 295 | |
| tgc gga agg ccc ttt tta tgg atg ata cga gaa cag aag aat gac gac | 960 |
| Cys Gly Arg Pro Phe Leu Trp Met Ile Arg Glu Gln Lys Asn Asp Asp | |
| 300 305 310 | |
| ggc gaa gaa gaa gaa gaa gaa gaa gag ttg agt tgc att ggg gaa ttg | 1008 |
| Gly Glu Glu Glu Glu Glu Glu Glu Glu Glu Leu Ser Cys Ile Gly Glu Leu | |
| 315 320 325 | |
| aaa aaa atg ggg aaa ata gtg tcg tgg tgc tcg cag ttg gag gtt ctg | 1056 |
| Lys Lys Met Gly Lys Ile Val Ser Trp Cys Ser Gln Leu Glu Val Leu | |
| 330 335 340 | |
| gcg cac cct gcg ttg gga tgt ttc gtg acg cat tgt ggg tgg aac tcg | 1104 |
| Ala His Pro Ala Leu Gly Cys Phe Val Thr His Cys Gly Trp Asn Ser | |
| 345 350 355 360 | |
| gct gtg gag agc ttg agt tgc ggg att ccg gtg gtg gcg gtg ccg cag | 1152 |
| Ala Val Glu Ser Leu Ser Cys Gly Ile Pro Val Val Ala Val Pro Gln | |
| 365 370 375 | |
| tgg ttt gat cag acg acg aat gcg aag ctg att gag gat gcg tgg ggg | 1200 |
| Trp Phe Asp Gln Thr Thr Asn Ala Lys Leu Ile Glu Asp Ala Trp Gly | |
| 380 385 390 | |

aca ggg gtg aga gtg aga atg aat gaa ggg ggt ggg gtt gat gga tgt 1248
 Thr Gly Val Arg Val Arg Met Asn Glu Gly Gly Gly Val Asp Gly Cys

395

400

405

gag ata gaa agg tgt gtg gag atg gtg atg gat ggg ggt gac aag acc 1296
 Glu Ile Glu Arg Cys Val Glu Met Val Met Asp Gly Gly Asp Lys Thr

410

415

420

aaa cta gtg aga gaa aat gcc atc aaa tgg aag act ttg gcc aga caa 1344
 Lys Leu Val Arg Glu Asn Ala Ile Lys Trp Lys Thr Leu Ala Arg Gln

425

430

435

440

gcc atg gga tagga tggat cttcactcaa caatctcaac gcctttcttc 1393
 Ala Met Gly

443

gtcaagttgc acacttttaa tctgctcaaa cagcggttca aataaatatc cccttcact 1453

taaaaaaaaa aaaaaaa

1470

< 2 1 0 > 3

< 2 1 1 > 2 0 6 2

< 2 1 2 > D N A

< 2 1 3 > Verbena hybrida

< 4 0 0 > 3

attttaccaa aaaaataaaaa aaaaa atg agc aga gct cac gtc ctc ttg gcc 52

Met Ser Arg Ala His Val Leu Leu Ala

1

5

aca ttc cca gca cag gga cac ata aat ccc gcc ctt caa ttc gcc aag 100
 Thr Phe Pro Ala Gln Gly His Ile Asn Pro Ala Leu Gln Phe Ala Lys

10

15

20

25

cgt ctc gca aat gcc gac att caa gtc aca ttc ttc acc agc gtc tac 148
 Arg Leu Ala Asn Ala Asp Ile Gln Val Thr Phe Phe Thr Ser Val Tyr
 30 35 40
 gca tgg cgc cgc atg tcc aga acc gcc gct ggc tca aac ggg ctc atc 196
 Ala Trp Arg Arg Met Ser Arg Thr Ala Ala Gly Ser Asn Gly Leu Ile
 45 50 55
 aat ttt gtg tcg ttt tcc gac ggg tat gac gac ggg tta cag ccc gga 244
 Asn Phe Val Ser Phe Ser Asp Gly Tyr Asp Asp Gly Leu Gln Pro Gly
 60 65 70
 gac gat ggg aag aac tac atg tcg gag atg aaa agc aga ggt ata aaa 292
 Asp Asp Gly Lys Asn Tyr Met Ser Glu Met Lys Ser Arg Gly Ile Lys
 75 80 85
 gcc ttg agc gat act ctt gca gcc aat aat gtc gat caa aaa agc agc 340
 Ala Leu Ser Asp Thr Leu Ala Ala Asn Asn Val Asp Gln Lys Ser Ser
 90 95 100 105
 aaa atc acg ttc gtg gtg tac tcc cac ctc ttt gca tgg gcg gcc aag 388
 Lys Ile Thr Phe Val Val Tyr Ser His Leu Phe Ala Trp Ala Ala Lys
 110 115 120
 gtg gcg cgt gag ttc cat ctc cgg agc gcg cta ctc tgg att gag cca 436
 Val Ala Arg Glu Phe His Leu Arg Ser Ala Leu Leu Trp Ile Glu Pro
 125 130 135
 gct acg gtg ttg gat ata ttt tac ttt tat ttc aac ggc tat agc gac 484
 Ala Thr Val Leu Asp Ile Phe Tyr Phe Tyr Phe Asn Gly Tyr Ser Asp
 140 145 150
 gaa atc gat gcg ggt tcg gat gct att cac ttg ccc gga gga ctc cca 532
 Glu Ile Asp Ala Gly Ser Asp Ala Ile His Leu Pro Gly Gly Leu Pro
 155 160 165

| | |
|--|-----|
| gtg ctg gcc cag cgt gat tta ccg tct ttc ctt ctt cct tcc acg cat | 580 |
| Val Leu Ala Gln Arg Asp Leu Pro Ser Phe Leu Leu Pro Ser Thr His | |
| 170 175 180 185 | |
| gag aga ttc cgt tca ctg atg aag gag aaa ttg gaa act tta gaa ggt | 628 |
| Glu Arg Phe Arg Ser Leu Met Lys Glu Lys Leu Glu Thr Leu Glu Gly | |
| 190 195 200 | |
| gaa gaa aaa cct aag gtc ttg gtg aac agc ttt gat gcg ttg gag cct | 676 |
| Glu Glu Lys Pro Lys Val Leu Val Asn Ser Phe Asp Ala Leu Glu Pro | |
| 205 210 215 | |
| gat gcg ctc aag gcc att gat aag tac gag atg att gca atc ggg ccg | 724 |
| Asp Ala Leu Lys Ala Ile Asp Lys Tyr Glu Met Ile Ala Ile Gly Pro | |
| 220 225 230 | |
| ttg att cct tcc gca ttc ttg gac ggt aaa gat cct tcg gac agg tct | 772 |
| Leu Ile Pro Ser Ala Phe Leu Asp Gly Lys Asp Pro Ser Asp Arg Ser | |
| 235 240 245 | |
| ttc ggc gga gat ttg ttc gag aaa ggg tcg aat gac gac gat tgc ctc | 820 |
| Phe Gly Gly Asp Leu Phe Glu Lys Gly Ser Asn Asp Asp Asp Cys Leu | |
| 250 255 260 265 | |
| gaa tgg ttg agc acg aat cct cga tct tcg gtg gtt tac gtt tcg ttc | 868 |
| Glu Trp Leu Ser Thr Asn Pro Arg Ser Ser Val Val Tyr Val Ser Phe | |
| 270 275 280 | |
| gga agc ttc gtt aat acg acg aag tcg caa atg gaa gag ata gca aga | 916 |
| Gly Ser Phe Val Asn Thr Thr Lys Ser Gln Met Glu Glu Ile Ala Arg | |
| 285 290 295 | |
| ggg ctg tta gat tgt ggg agg ccg ttt ttg tgg gtg gta aga gta aac | 964 |
| Gly Leu Leu Asp Cys Gly Arg Pro Phe Leu Trp Val Val Arg Val Asn | |
| 300 305 310 | |

gaa gga gaa gag gta ttg ata agt tgc atg gag gag ttg aaa cga gtg 1012
 Glu Gly Glu Glu Val Leu Ile Ser Cys Met Glu Glu Leu Lys Arg Val
 315 320 325
 ggg aaa att gta tct tgg tgt tct caa ttg gaa gtc ctg acg cat ccc 1060
 Gly Lys Ile Val Ser Trp Cys Ser Gln Leu Glu Val Leu Thr His Pro
 330 335 340 345
 tcg ttg gga tgt ttc gtg aca cac tgc ggg tgg aat tcg act cta gag 1108
 Ser Leu Gly Cys Phe Val Thr His Cys Gly Trp Asn Ser Thr Leu Glu
 350 355 360
 agt ata tct ttc ggg gtt ccg atg gtg gct ttt ccg cag tgg ttc gat 1156
 Ser Ile Ser Phe Gly Val Pro Met Val Ala Phe Pro Gln Trp Phe Asp
 365 370 375
 caa ggg acg aat gcg aag ctg atg gag gat gtg tgg agg acg ggt gtg. 1204.
 Gln Gly Thr Asn Ala Lys Leu Met Glu Asp Val Trp Arg Thr Gly Val
 380 385 390
 aga gtg aga gct aat gag gag ggt agc gtc gtt gat ggt gat gaa att 1252
 Arg Val Arg Ala Asn Glu Glu Gly Ser Val Val Asp Gly Asp Glu Ile
 395 400 405
 agg aga tgt att gag gag gtt atg gat ggg gga gaa aag agt agg aaa 1300
 Arg Arg Cys Ile Glu Glu Val Met Asp Gly Gly Glu Lys Ser Arg Lys
 410 415 420 425
 ctt aga gag agt gct ggc aag tgg aag gat ttg gca aga aaa gct atg 1348
 Leu Arg Glu Ser Ala Gly Lys Trp Lys Asp Leu Ala Arg Lys Ala Met
 430 435 440
 gag gaa gat gga tct tca gtt aac aac ctc aag gtc ttt ctt gat gag 1396
 Glu Glu Asp Gly Ser Ser Val Asn Asn Leu Lys Val Phe Leu Asp Glu
 445 450 455

ggt gta ggt atc taaagacgta aatgagggtc ccataggcaa aattgcaa 1448

Val Val Gly Ile

460 461

ttcatctcgt aagttgaata ctttttggt ttaattttgt tcgagttgt ttttcaaat 1508
 ttatcttgta attttacatt gagggtgaaat ttagtctgat tttactgga aaaatataaa 1568
 attcattgtt gagactcttc atcaaaatca tctgatttcc tttattgtct tgggtcaaat 1628
 tctcatatca attggaaaaa ataaatttca aaatcggtcca attttgaacc aagaagaag 1688
 tataatttga ccaaaataat aaaaggattc aagtgtatctt gatgaagtgt ctgagcgacg 1748
 agttctatat ttttccaccg aatttctaac gagggttttga atttttttta gccaaaatcg 1808
 gactaacttt gtacaaaatg aaaagttata tgatgaaatt ttaaaaaaca aactcagaca 1868
 ataataaagc ccgaaagtag taaaattacc tgacgaaatt tgcaatttcg cctcctattt 1928
 taattttttt ggtgtgttta ataaatcggt tattttactt ttaattaaaa taaaagttag 1988
 atgcatgata gcttggtgag tatatatgag ttgatggtaa tgtacgatat tttctaaaaa 2048
 aaaaaaaaaa aaaa 2062

< 2 1 0 > 4

< 2 1 1 > 1 6 7 1

< 2 1 2 > D N A

< 2 1 3 > Torenia hybrira

< 2 2 0 >

< 2 2 1 >

< 2 2 2 >

< 2 2 3 > Xaa (64) is Cys or Phe, Xaa (65) is Ser or Pro.

< 4 0 0 > 4

aacacataaa aaaaaataa aagaagaaat aattaaaaaa aaaa atg gtt aac 53

Met Val Asn

1

aaa cgc cat att cta cta gca aca ttc cca gca caa ggc cac ata aac 101
 Lys Arg His Ile Leu Leu Ala Thr Phe Pro Ala Gln Gly His Ile Asn
 5 10 15
 cct tct ctc gag ttc gcc aaa agg ctc ctc aac acc gga tac gtc gac 149
 Pro Ser Leu Glu Phe Ala Lys Arg Leu Leu Asn Thr Gly Tyr Val Asp
 20 25 30 35
 caa gtc aca ttc ttc acg agt gta tac gca ttg aga cgc atg cgc ttc 197
 Gln Val Thr Phe Phe Thr Ser Val Tyr Ala Leu Arg Arg Met Arg Phe
 40 45 50
 gaa acc gat ccg agc agc aga atc gat ttc gtg gca tkt yca gat tct 245
 Glu Thr Asp Pro Ser Ser Arg Ile Asp Phe Val Ala Xaa Xaa Asp Ser
 55 60 65
 tac gat gat ggc tta aag aaa ggc gac gat ggc aaa aac tac atg tcg 293
 Tyr Asp Asp Gly Leu Lys Lys Gly Asp Asp Gly Lys Asn Tyr Met Ser
 70 75 80
 gag atg aga aag cgc gga acg aag gcc tta aag gac act ctt att aag 341
 Glu Met Arg Lys Arg Gly Thr Lys Ala Leu Lys Asp Thr Leu Ile Lys
 85 90 95
 ctc aac gat gct gcg atg gga agt gaa tgt tac aat cgc gtg agc ttt 389
 Leu Asn Asp Ala Ala Met Gly Ser Glu Cys Tyr Asn Arg Val Ser Phe
 100 105 110 115
 gtg gtg tac tct cat cta ttt tcg tgg gca gct gaa gtg gcg cgt gaa 437
 Val Val Tyr Ser His Leu Phe Ser Trp Ala Ala Glu Val Ala Arg Glu
 120 125 130
 gtc gac gtg ccg agt gcc ctt ctt tgg att gaa ccg gct acg gtt ttc 485
 Val Asp Val Pro Ser Ala Leu Leu Trp Ile Glu Pro Ala Thr Val Phe
 135 140 145

| | |
|---|-----|
| gat gtg tac tat ttt tac ttc aat ggg tat gcc gat gat atc gat gcg | 533 |
| Asp Val Tyr Tyr Phe Tyr Phe Asn Gly Tyr Ala Asp Asp Ile Asp Ala | |
| 150 155 160 | |
| ggc tca gat caa atc caa ctg ccc aat ctt ccg cag ctc tcc aag caa | 581 |
| Gly Ser Asp Gln Ile Gln Leu Pro Asn Leu Pro Gln Leu Ser Lys Gln | |
| 165 170 175 | |
| gat ctc ccc tct ttc cta ctc cct tcg agc ccc gcg aga ttc cga acc | 629 |
| Asp Leu Pro Ser Phe Leu Leu Pro Ser Ser Pro Ala Arg Phe Arg Thr | |
| 180 185 190 195 | |
| cta atg aaa gaa aag ttc gac acg ctc gac aaa gaa ccg aaa gcg aag | 677 |
| Leu Met Lys Glu Lys Phe Asp Thr Leu Asp Lys Glu Pro Lys Ala Lys | |
| 200 205 210 | |
| gtc ttg ata aac acg ttc gac gca tta gaa acc gaa caa ctc aaa gcc | 725 |
| Val Leu Ile Asn Thr Phe Asp Ala Leu Glu Thr Glu Gln Leu Lys Ala | |
| 215 220 225 | |
| atc gac agg tat gaa cta ata tcc atc ggc cca tta atc cca tca tcg | 773 |
| Ile Asp Arg Tyr Glu Leu Ile Ser Ile Gly Pro Leu Ile Pro Ser Ser | |
| 230 235 240 | |
| ata ttc tca gat ggc aac gac ccc tca tca agc aac aaa tcc tac ggt | 821 |
| Ile Phe Ser Asp Gly Asn Asp Pro Ser Ser Ser Asn Lys Ser Tyr Gly | |
| 245 250 255 | |
| gga gac ctc ttc aga aaa gcc gat gaa act tac atg gac tgg cta aac | 869 |
| Gly Asp Leu Phe Arg Lys Ala Asp Glu Thr Tyr Met Asp Trp Leu Asn | |
| 260 265 270 275 | |
| tca aaa ccc gaa tca tcg gtc gtt tac gtt tcg ttc ggg agc ctc ctg | 917 |
| Ser Lys Pro Glu Ser Ser Val Val Tyr Val Ser Phe Gly Ser Leu Leu | |
| 280 285 290 | |

agg ctc ccg aaa ccc caa atg gaa gaa ata gca ata ggg ctt tca gac 965
 Arg Leu Pro Lys Pro Gln Met Glu Glu Ile Ala Ile Gly Leu Ser Asp
 295 300 305
 acc aaa tcg cca gtt ctc tgg gtg ata aga aga aac gaa gag ggc gac 1013
 Thr Lys Ser Pro Val Leu Trp Val Ile Arg Arg Asn Glu Glu Gly Asp
 310 315 320
 gaa caa gag caa gca gaa gaa gaa gag aag ctg ctg agc ttc ttt gat 1061
 Glu Gln Glu Gln Ala Glu Glu Glu Glu Lys Leu Leu Ser Phe Phe Asp
 325 330 335
 cgt cac gga act gaa cga ctc ggg aaa atc gtg aca tgg tgc tca caa 1109
 Arg His Gly Thr Glu Arg Leu Gly Lys Ile Val Thr Trp Cys Ser Gln
 340 345 350 355
 ttg gat gtt ctg acg cat aag tcg gtg gga tgc ttc gtg acg cat tgc 1157
 Leu Asp Val Leu Thr His Lys Ser Val Gly Cys Phe Val Thr His Cys
 360 365 370
 ggt tgg aat tct gct atc gag agc ctg gct tgt ggt gtg ccc gtg gtg 1205
 Gly Trp Asn Ser Ala Ile Glu Ser Leu Ala Cys Gly Val Pro Val Val
 375 380 385
 tgc ttt cct caa tgg ttc gat caa ggg act aat gcg aag atg atc gaa 1253
 Cys Phe Pro Gln Trp Phe Asp Gln Gly Thr Asn Ala Lys Met Ile Glu
 390 395 400
 gat gtg tgg agg agt ggt gtg aga gtc aga gtg aat gag gaa ggc ggc 1301
 Asp Val Trp Arg Ser Gly Val Arg Val Arg Val Asn Glu Glu Gly Gly
 405 410 415
 gtt gtt gat agg cgt gag att aag agg tgc gtc tcg gag gtt ata aag 1349
 Val Val Asp Arg Arg Glu Ile Lys Arg Cys Val Ser Glu Val Ile Lys
 420 425 430 435

agt cga gag ttg aga gaa agc gca atg atg tgg aag ggt ttg gct aaa 1397
 Ser Arg Glu Leu Arg Glu Ser Ala Met Met Trp Lys Gly Leu Ala Lys
 440 445 450
 gaa gct atg gat gaa gaa cgt gga tca tca atg aac aat ctg aag aat 1445
 Glu Ala Met Asp Glu Glu Arg Gly Ser Ser Met Asn Asn Leu Lys Asn
 455 460 465
 ttt att act agg att att aat gaa aat gcc tca taagttgtac 1488
 Phe Ile Thr Arg Ile Ile Asn Glu Asn Ala Ser
 470 475 478
 tatatatgtt attattgttg ttatggacgt cgaattaagt attagttaaa tgatatgtat 1548
 ttagaggaag gccaaaacgg gctacacccg gcaggccacg ggttggaaaa gcccgccatg 1608
 atttaaaata tatattttta aataaatatt ttctactatt aaactaaaaa aaaaaaaaaa 1668
 aaa 1671
 < 2 1 0 > 5
 < 2 1 1 > 1 4 3 7
 < 2 1 2 > D N A
 < 2 1 3 > Perilla frutescens
 < 4 0 0 > 5
 ttcaaaactc ataacgtgat tgagctaata tgcacatctt cctcttcaaa gtctacagtg 60
 tcatcctacc agcatcatca tgatcaatct ctttataatg aggagaatgg agtaacaagg 120
 agtgggtttt gttactcagc ttcaacctac gtacgtacta ctactgactc aactctcaag 180
 agaatgaata taatatataa tgggcgatag atctttgtag atatgtaggt gtagcctgca 240
 ggtgggtaat taatttccgg tgtgggaaaa taaataaata aataaatata gcg atg agc 299

Met Ser

agc agc agc agc aga agg tgg aga gag aat gag ggg atg cga agg aca 347
 Ser Ser Ser Ser Arg Arg Trp Arg Glu Asn Glu Gly Met Arg Arg Thr
 5 10 15
 ttg ctg ggg ttg ggt ttg ggg cag ttg gtt tct ttc gat ttg gct atc 395
 Leu Leu Gly Leu Gly Leu Gly Gln Leu Val Ser Phe Asp Leu Ala Ile
 20 25 30
 atg acc ttt tct gct tct ttg gtt tca acc aca gtg gat gca cca ctt 443
 Met Thr Phe Ser Ala Ser Leu Val Ser Thr Thr Val Asp Ala Pro Leu
 35 40 45 50
 act atg tcg ttc act aca tac act gtt gtg gcc ctg ctc tat gga acc 491
 Thr Met Ser Phe Thr Thr Tyr Thr Val Val Ala Leu Leu Tyr Gly Thr
 55 60 65
 atc ttg ctt tac cgc cgc cac aaa ttc ttg gtt cca tgg tac tgg tat 539
 Ile Leu Leu Tyr Arg Arg His Lys Phe Leu Val Pro Trp Tyr Trp Tyr
 70 75 80
 gct ctc ctg ggg ttc gtg gac gtc cac ggc aat tat ctt gtt aat aaa 587
 Ala Leu Leu Gly Phe Val Asp Val His Gly Asn Tyr Leu Val Asn Lys
 85 90 95
 gca ttc gag ttg aca tcg att acg agt gtg agc ata ctg gat tgt tgg 635
 Ala Phe Glu Leu Thr Ser Ile Thr Ser Val Ser Ile Leu Asp Cys Trp
 100 105 110
 aca atc gtg tgg tcc atc atc ttt aca tgg atg ttc cta ggc aca aaa 683
 Thr Ile Val Trp Ser Ile Ile Phe Thr Trp Met Phe Leu Gly Thr Lys
 115 120 125 130
 tac tct gta tac cag ttt gtc ggt gct gct att tgt gta gga ggc ctc 731
 Tyr Ser Val Tyr Gln Phe Val Gly Ala Ala Ile Cys Val Gly Gly Leu
 135 140 145

ctc ctc gtg ctt ctt tcc gac tca ggg gtc act gct gct ggt tgc aat 779
 Leu Leu Val Leu Leu Ser Asp Ser Gly Val Thr Ala Ala Gly Ser Asn
 150 155 160
 cct ctt ttg ggt gat ttt ctt gtc ata aca ggc tct att ttg ttc aca 827
 Pro Leu Leu Gly Asp Phe Leu Val Ile Thr Gly Ser Ile Leu Phe Thr
 165 170 175
 ctc agc act gtt ggt cag gaa tac tgc gtg aag agg aaa gat cgt att 875
 Leu Ser Thr Val Gly Gln Glu Tyr Cys Val Lys Arg Lys Asp Arg Ile
 180 185 190
 gaa gta gta gca atg atc ggt gta ttt ggt atg ctc atc agt gca acc 923
 Glu Val Val Ala Met Ile Gly Val Phe Gly Met Leu Ile Ser Ala Thr
 195 200 205 210
 gag att act gtg ctg gag agg aat gcc ctc tca tca atg cag tgg tct 971
 Glu Ile Thr Val Leu Glu Arg Asn Ala Leu Ser Ser Met Gln Trp Ser
 215 220 225
 act gga ctt ttg gca gcc tat gtt gtt tat gca ctg tcc agc ttc ctc 1019
 Thr Gly Leu Leu Ala Ala Tyr Val Val Tyr Ala Leu Ser Ser Phe Leu
 230 235 240
 ttc tgc aca ctc acc cct ttt ctt ctc aag atg agt ggc gct gca ttt 1067
 Phe Cys Thr Leu Thr Pro Phe Leu Leu Lys Met Ser Gly Ala Ala Phe
 245 250 255
 ttc aat ctt tcc atg ctt aca tct gat atg tgg gct gtt gca att agg 1115
 Phe Asn Leu Ser Met Leu Thr Ser Asp Met Trp Ala Val Ala Ile Arg
 260 265 270
 aca ttc ata tac aac cag gag gtt gat tgg tta tac tat ttg gcc ttt 1163
 Thr Phe Ile Tyr Asn Gln Glu Val Asp Trp Leu Tyr Tyr Leu Ala Phe
 275 280 285 290

tgt ctc gtt gtt gtt gga ata ttc ata tat aca aaa aca gag aag gat 1211
Cys Leu Val Val Val Gly Ile Phe Ile Tyr Thr Lys Thr Glu Lys Asp

295

300

305

cct aac aat acg aga gcc ctt gag aat gga aac ttg gat cat gaa tat 1259
Pro Asn Asn Thr Arg Ala Leu Glu Asn Gly Asn Leu Asp His Glu Tyr

310

315

320

agt ctc ctt gag gat caa gat gac aca cca aga aaa cca tagctagctt 1308
Ser Leu Leu Glu Asp Gln Asp Asp Thr Pro Arg Lys Pro

325

330

335

tgccacaat cttttcatca acagtttttaa ataattcgtg aggggggagag agatcgagat 1368
actaattaat ggacgtctat tatatagttg gaggtttttg ttttatttat ttatttgagt 1428
aaaaaaaaa 1437

< 2 1 0 > 6

< 2 1 1 > 2 1 0 5

< 2 1 2 > D N A

< 2 1 3 > Petunia hybrida

< 4 0 0 > 6

agtgagcgca acgcaattaa tgtgagttag ctactcatt aggcacccca ggctttacac 60
tttatgcttc cggctcgtat gttgtgtgga attgtgagcg gataacaatt tcacacagga 120
aacagctatg accatgatta cgccaagctc gaaattaacc ctactaaag ggaacaaaag 180
ctggagctcc acgcggtggc ggccgctcta gaactagtgg atccccggg ctgcaggaat 240
tccgttgctg tcgccacaat ttacaaacca agaaattaag catccctttc ccccccttaa 300
aaaacataca agtttttaat ttttactaa gcaagaaaat atg gtg cag cct cat gtc 358

Met Val Gln Pro His Val

1

5

atc tta aca aca ttt cca gca caa ggc cat att aat cca gca ctt caa 406
 Ile Leu Thr Thr Phe Pro Ala Gln Gly His Ile Asn Pro Ala Leu Gln
 10 15 20
 ttt gcc aag aat ctt gtc aag atg ggc ata gaa gtg aca ttt tct aca 454
 Phe Ala Lys Asn Leu Val Lys Met Gly Ile Glu Val Thr Phe Ser Thr
 25 30 35
 agc att tat gcc caa agc cgt atg gat gaa aaa tcc att ctt aat gca 502
 Ser Ile Tyr Ala Gln Ser Arg Met Asp Glu Lys Ser Ile Leu Asn Ala
 40 45 50
 cca aaa gga ttg aat ttc att cca ttt tcc gat ggc ttt gat gaa ggt 550
 Pro Lys Gly Leu Asn Phe Ile Pro Phe Ser Asp Gly Phe Asp Glu Gly
 55 60 65 70
 ttt gat cat tca aaa gac cct gta ttt tac atg tca caa ctt cgt aaa 598
 Phe Asp His Ser Lys Asp Pro Val Phe Tyr Met Ser Gln Leu Arg Lys
 75 80 85
 tgt gga agt gaa act gtc aaa aaa ata att ctc act tgc tct gaa aat 646
 Cys Gly Ser Glu Thr Val Lys Lys Ile Ile Leu Thr Cys Ser Glu Asn
 90 95 100
 gga cag cct ata act tgc cta ctt tac tcc att ttc ctt cct tgg gca 694
 Gly Gln Pro Ile Thr Cys Leu Leu Tyr Ser Ile Phe Leu Pro Trp Ala
 105 110 115
 gca gag gta gca cgt gaa gtt cac atc cct tct gct ctt ctt tgg agt 742
 Ala Glu Val Ala Arg Glu Val His Ile Pro Ser Ala Leu Leu Trp Ser
 120 125 130
 caa cca gca aca ata ttg gac ata tat tac ttc aac ttt cat gga tat 790
 Gln Pro Ala Thr Ile Leu Asp Ile Tyr Tyr Phe Asn Phe His Gly Tyr
 135 140 145 150

| | |
|---|------|
| gaa aaa gct atg gct aat gaa tcc aat gat cca aat tgg tcc att caa | 838 |
| Glu Lys Ala Met Ala Asn Glu Ser Asn Asp Pro Asn Trp Ser Ile Gln | |
| 155 160 165 | |
| ctt ccc ggg ctt cca cta ctg gaa act cga gat ctt cct tca ttt tta | 886 |
| Leu Pro Gly Leu Pro Leu Leu Glu Thr Arg Asp Leu Pro Ser Phe Leu | |
| 170 175 180 | |
| ctt cct tat ggt gca aaa ggg agt ctt cga gtt gca ctt cca cca ttc | 934 |
| Leu Pro Tyr Gly Ala Lys Gly Ser Leu Arg Val Ala Leu Pro Pro Phe | |
| 185 190 195 | |
| aaa gaa ttg ata gac aca tta gat gct gaa acc act cct aag att ctt | 982 |
| Lys Glu Leu Ile Asp Thr Leu Asp Ala Glu Thr Thr Pro Lys Ile Leu | |
| 200 205 210 | |
| gtg aat aca ttt gat gaa tta gag cct gag gca ctc aat gca att gaa | 1030 |
| Val Asn Thr Phe Asp Glu Leu Glu Pro Glu Ala Leu Asn Ala Ile Glu | |
| 215 220 225 230 | |
| ggg tat aag ttt tat gga att gga ccg ttg att cct tct gct ttc ttg | 1078 |
| Gly Tyr Lys Phe Tyr Gly Ile Gly Pro Leu Ile Pro Ser Ala Phe Leu | |
| 235 240 245 | |
| ggg gga aat gac cct tta gat gct tca ttt ggt ggt gat ctt ttt caa | 1126 |
| Gly Gly Asn Asp Pro Leu Asp Ala Ser Phe Gly Gly Asp Leu Phe Gln | |
| 250 255 260 | |
| aat tca aat gac tat atg gaa tgg tta aac tca aag cca aat tca tca | 1174 |
| Asn Ser Asn Asp Tyr Met Glu Trp Leu Asn Ser Lys Pro Asn Ser Ser | |
| 265 270 275 | |
| gtt gtt tat ata tct ttt ggg agt cta atg aat cca tct att agc caa | 1222 |
| Val Val Tyr Ile Ser Phe Gly Ser Leu Met Asn Pro Ser Ile Ser Gln | |
| 280 285 290 | |

$2 \quad 2 \quad / \quad 3 \quad 7$

tgg aaa gaa ttg gct aga gaa gct gtg aag gaa ggt gga tct tca cac 1702
 Trp Lys Glu Leu Ala Arg Glu Ala Val Lys Glu Gly Gly Ser Ser His
 440 445 450
 aag aat tta aag gct ttt att gat gat gtt gcc aaa ggg ttt taatatttac 1754
 Lys Asn Leu Lys Ala Phe Ile Asp Asp Val Ala Lys Gly Phe
 455 460 465 468
 aggcttttgc cgtgatatta cttcccctag ttggcgattc actctttgtg gacttgcttg 1814
 acaaaaaact gagggaaatgt gctaagacac gctaattgctt taagaagtca tttccaaggc 1874
 ttgaagcctg cttttaaaac ttattagcca gtaatctata gggttctctt ctatttttct 1934
 ctgtctctct ttttagcctt tttctttcca aggtttaaga atagcgtgaa catagcttag 1994
 tacgtagtct tggatatctt atcttaccaa gtgcaagatt atgcttatgc tgtcctccta 2054
 aatttcttaa taaaatgcaa gatgaaaaag tacaaaaaaa aaaaaaaaaa a 2105

< 2 1 0 > 7

< 2 1 1 > 4 6 0

< 2 1 2 > P R T

< 2 1 3 > *Perilla frutescens*

< 4 0 0 > 7

Met Val Arg Arg Arg Val Leu Leu Ala Thr Phe Pro Ala Gln Gly His

1 5 10 15

Ile Asn Pro Ala Leu Gln Phe Ala Lys Arg Leu Leu Lys Ala Gly Thr

20 25 30

Asp Val Thr Phe Phe Thr Ser Val Tyr Ala Trp Arg Arg Met Ala Asn

35 40 45

Thr Ala Ser Ala Ala Ala Gly Asn Pro Pro Gly Leu Asp Phe Val Ala

50 55 60

Phe Ser Asp Gly Tyr Asp Asp Gly Leu Lys Pro Cys Gly Asp Gly Lys

65 70 75 80

Arg Tyr Met Ser Glu Met Lys Ala Arg Gly Ser Glu Ala Leu Arg Asn
 85 90 95
 Leu Leu Leu Asn Asn His Asp Val Thr Phe Val Val Tyr Ser His Leu
 100 105 110
 Phe Ala Trp Ala Ala Glu Val Ala Arg Glu Ser Gln Val Pro Ser Ala
 115 120 125
 Leu Leu Trp Val Glu Pro Ala Thr Val Leu Cys Ile Tyr Tyr Phe Tyr
 130 135 140
 Phe Asn Gly Tyr Ala Asp Glu Ile Asp Ala Gly Ser Asp Glu Ile Gln
 145 150 155 160
 Leu Pro Arg Leu Pro Pro Leu Glu Gln Arg Ser Leu Pro Thr Phe Leu
 165 170 175
 Leu Pro Glu Thr Pro Glu Arg Phe Arg Leu Met Met Lys Glu Lys Leu
 180 185 190
 Glu Thr Leu Asp Gly Glu Glu Lys Ala Lys Val Leu Val Asn Thr Phe
 195 200 205
 Asp Ala Leu Glu Pro Asp Ala Leu Thr Ala Ile Asp Arg Tyr Glu Leu
 210 215 220
 Ile Gly Ile Gly Pro Leu Ile Pro Ser Ala Phe Leu Asp Gly Gly Asp
 225 230 235 240
 Pro Ser Glu Thr Ser Tyr Gly Gly Asp Leu Phe Glu Lys Ser Glu Glu
 245 250 255
 Asn Asn Cys Val Glu Trp Leu Asp Thr Lys Pro Lys Ser Ser Val Val
 260 265 270
 Tyr Val Ser Phe Gly Ser Val Leu Arg Phe Pro Lys Ala Gln Met Glu
 275 280 285
 Glu Ile Gly Lys Gly Leu Leu Ala Cys Gly Arg Pro Phe Leu Trp Met

290 295 300
 Ile Arg Glu Gln Lys Asn Asp Asp Gly Glu Glu Glu Glu Glu Glu Leu
 305 310 315 320
 Ser Cys Ile Gly Glu Leu Lys Lys Met Gly Lys Ile Val Ser Trp Cys
 325 330 335
 Ser Gln Leu Glu Val Leu Ala His Pro Ala Leu Gly Cys Phe Val Thr
 340 345 350
 His Cys Gly Trp Asn Ser Ala Val Glu Ser Leu Ser Cys Gly Val Pro
 355 360 365
 Val Val Ala Val Pro Gln Trp Phe Asp Gln Thr Thr Asn Ala Lys Leu
 370 375 380
 Ile Glu Asp Ala Trp Gly Thr Gly Val Arg Val Arg Met Asn Glu Gly
 385 390 395 400
 Gly Gly Val Asp Gly Ser Glu Ile Glu Arg Cys Val Glu Met Val Met
 405 410 415
 Asp Gly Gly Glu Lys Ser Lys Leu Val Arg Glu Asn Ala Ile Lys Trp
 420 425 430
 Lys Thr Leu Ala Arg Glu Ala Met Gly Glu Asp Gly Ser Ser Leu Lys
 435 440 445
 Asn Leu Asn Ala Phe Leu His Gln Val Ala Arg Ala
 450 455 460
 < 2 1 0 > 8
 < 2 1 1 > 4 4 3
 < 2 1 2 > P R T
 < 2 1 3 > *Perilla frutescens*
 < 4 0 0 > 8

Met Val Arg Arg Arg Val Leu Leu Ala Thr Phe Pro Ala Gln Gly His
 1 5 10 15
 Ile Asn Pro Ala Leu Gln Phe Ala Lys Arg Leu Leu Lys Ala Gly Thr
 20 25 30
 Asp Val Thr Phe Phe Thr Ser Val Tyr Ala Trp Arg Arg Met Ala Asn
 35 40 45
 Thr Ala Ser Ala Ala Ala Gly Asn Pro Pro Gly Leu Asp Phe Val Ala
 50 55 60
 Phe Ser Asp Gly Tyr Asp Asp Gly Leu Lys Pro Gly Gly Asp Gly Lys
 65 70 75 80
 Arg Tyr Met Ser Glu Met Lys Ala Arg Gly Ser Glu Ala Leu Arg Asn
 85 90 95
 Leu Leu Leu Asn Asn Asp Asp Val Thr Phe Val Val Tyr Ser His Leu
 100 105 110
 Phe Ala Trp Ala Ala Glu Val Ala Arg Leu Ser His Val Pro Thr Ala
 115 120 125
 Leu Leu Trp Val Glu Pro Ala Thr Val Leu Cys Ile Tyr His Phe Tyr
 130 135 140
 Phe Asn Gly Tyr Ala Asp Glu Ile Asp Ala Gly Ser Asn Glu Ile Gln
 145 150 155 160
 Leu Pro Arg Leu Pro Ser Leu Glu Gln Arg Ser Leu Pro Thr Phe Leu
 165 170 175
 Leu Pro Ala Thr Pro Glu Arg Phe Arg Leu Met Met Lys Glu Lys Leu
 180 185 190
 Glu Thr Leu Asp Gly Glu Glu Lys Ala Lys Val Leu Val Asn Thr Phe
 195 200 205

Asp Ala Leu Glu Pro Asp Ala Leu Thr Ala Ile Asp Arg Tyr Glu Leu
 210 215 220
 Ile Gly Ile Gly Pro Leu Ile Pro Ser Ala Phe Leu Asp Gly Glu Asp
 225 230 235 240
 Pro Ser Glu Thr Ser Tyr Gly Gly Asp Leu Phe Glu Lys Ser Glu Glu
 245 250 255
 Asn Asn Cys Val Glu Trp Leu Asn Ser Lys Pro Lys Ser Ser Val Val
 260 265 270
 Tyr Val Ser Phe Gly Ser Val Leu Arg Phe Pro Lys Ala Gln Met Glu
 275 280 285
 Glu Ile Gly Lys Gly Leu Leu Ala Cys Gly Arg Pro Phe Leu Trp-Met
 290 295 300
 Ile Arg Glu Gln Lys Asn Asp Asp Gly Glu Glu Glu Glu Glu Glu
 305 310 315 320
 Glu Leu Ser Cys Ile Gly Glu Leu Lys Lys Met Gly Lys Ile Val Ser
 325 330 335
 Trp Cys Ser Gln Leu Glu Val Leu Ala His Pro Ala Leu Gly Cys Phe
 340 345 350
 Val Thr His Cys Gly Trp Asn Ser Ala Val Glu Ser Leu Ser Cys Gly
 355 360 365
 Ile Pro Val Val Ala Val Pro Gln Trp Phe Asp Gln Thr Thr Asn Ala
 370 375 380
 Lys Leu Ile Glu Asp Ala Trp Gly Thr Gly Val Arg Val Arg Met Asn
 385 390 395 400
 Glu Gly Gly Gly Val Asp Gly Cys Glu Ile Glu Arg Cys Val Glu Met
 405 410 415

Val Met Asp Gly Gly Asp Lys Thr Lys Leu Val Arg Glu Asn Ala Ile

420

425

430

Lys Trp Lys Thr Leu Ala Arg Gln Ala Met Gly

435

440

443

< 2 1 0 > 9

< 2 1 1 > 4 6 1

< 2 1 2 > P R T

< 2 1 3 > Verbena hybrida

< 4 0 0 > 9

Met Ser Arg Ala His Val Leu Leu Ala Thr Phe Pro Ala Gln Gly His

1

5

10

15

Ile Asn Pro Ala Leu Gln Phe Ala Lys Arg Leu Ala Asn Ala Asp Ile

20

25

30

Gln Val Thr Phe Phe Thr Ser Val Tyr Ala Trp Arg Arg Met Ser Arg

35

40

45

Thr Ala Ala Gly Ser Asn Gly Leu Ile Asn Phe Val Ser Phe Ser Asp

50

55

60

Gly Tyr Asp Asp Gly Leu Gln Pro Gly Asp Asp Gly Lys Asn Tyr Met

65

70

75

80

Ser Glu Met Lys Ser Arg Gly Ile Lys Ala Leu Ser Asp Thr Leu Ala

85

90

95

Ala Asn Asn Val Asp Gln Lys Ser Ser Lys Ile Thr Phe Val Val Tyr

100

105

110

Ser His Leu Phe Ala Trp Ala Ala Lys Val Ala Arg Glu Phe His Leu

115

120

125

Arg Ser Ala Leu Leu Trp Ile Glu Pro Ala Thr Val Leu Asp Ile Phe

130

135

140

Tyr Phe Tyr Phe Asn Gly Tyr Ser Asp Glu Ile Asp Ala Gly Ser Asp
 145 150 155 160
 Ala Ile His Leu Pro Gly Gly Leu Pro Val Leu Ala Gln Arg Asp Leu
 165 170 175
 Pro Ser Phe Leu Leu Pro Ser Thr His Glu Arg Phe Arg Ser Leu Met
 180 185 190
 Lys Glu Lys Leu Glu Thr Leu Glu Gly Glu Glu Lys Pro Lys Val Leu
 195 200 205
 Val Asn Ser Phe Asp Ala Leu Glu Pro Asp Ala Leu Lys Ala Ile Asp
 210 215 220
 Lys Tyr Glu Met Ile Ala Ile Gly Pro Leu Ile Pro Ser Ala Phe Leu
 225 230 235 240
 Asp Gly Lys Asp Pro Ser Asp Arg Ser Phe Gly Gly Asp Leu Phe Glu
 245 250 255
 Lys Gly Ser Asn Asp Asp Asp Cys Leu Glu Trp Leu Ser Thr Asn Pro
 260 265 270
 Arg Ser Ser Val Val Tyr Val Ser Phe Gly Ser Phe Val Asn Thr Thr
 275 280 285
 Lys Ser Gln Met Glu Glu Ile Ala Arg Gly Leu Leu Asp Cys Gly Arg
 290 295 300
 Pro Phe Leu Trp Val Val Arg Val Asn Glu Gly Glu Glu Val Leu Ile
 305 310 315 320
 Ser Cys Met Glu Glu Leu Lys Arg Val Gly Lys Ile Val Ser Trp Cys
 325 330 335
 Ser Gln Leu Glu Val Leu Thr His Pro Ser Leu Gly Cys Phe Val Thr
 340 345 350

His Cys Gly Trp Asn Ser Thr Leu Glu Ser Ile Ser Phe Gly Val Pro
 355 360 365

Met Val Ala Phe Pro Gln Trp Phe Asp Gln Gly Thr Asn Ala Lys Leu
 370 375 380

Met Glu Asp Val Trp Arg Thr Gly Val Arg Val Arg Ala Asn Glu Glu
 385 390 395 400

Gly Ser Val Val Asp Gly Asp Glu Ile Arg Arg Cys Ile Glu Glu Val
 405 410 415

Met Asp Gly Gly Glu Lys Ser Arg Lys Leu Arg Glu Ser Ala Gly Lys
 420 425 430

Trp Lys Asp Leu Ala Arg Lys Ala Met Glu Glu Asp Gly Ser Ser Val
 435 440 445

Asn Asn Leu Lys Val Phe Leu Asp Glu Val Val Gly Ile
 450 455 460 461

< 2 1 0 > 1 0

< 2 1 1 > 4 7 8

< 2 1 2 > P R T

< 2 1 3 > *Torenia hybrida*

< 2 2 0 >

< 2 2 1 >

< 2 2 2 >

< 2 2 3 > Xaa (64) is Cys or Phe, Xaa (65) is Ser or Pro.

< 4 0 0 > 1 0

Met Val Asn Lys Arg His Ile Leu Leu Ala Thr Phe Pro Ala Gln Gly
 1 5 10 15

His Ile Asn Pro Ser Leu Glu Phe Ala Lys Arg Leu Leu Asn Thr Gly
 20 25 30

Tyr Val Asp Gln Val Thr Phe Phe Thr Ser Val Tyr Ala Leu Arg Arg
 35 40 45
 Met Arg Phe Glu Thr Asp Pro Ser Ser Arg Ile Asp Phe Val Ala Xaa
 50 55 60
 Xaa Asp Ser Tyr Asp Asp Gly Leu Lys Lys Gly Asp Asp Gly Lys Asn
 65 70 75 80
 Tyr Met Ser Glu Met Arg Lys Arg Gly Thr Lys Ala Leu Lys Asp Thr
 85 90 95
 Leu Ile Lys Leu Asn Asp Ala Ala Met Gly Ser Glu Cys Tyr Asn Arg
 100 105 110
 Val Ser Phe Val Val Tyr Ser His Leu Phe Ser Trp Ala Ala Glu Val
 115 120 125
 Ala Arg Glu Val Asp Val Pro Ser Ala Leu Leu Trp Ile Glu Pro Ala
 130 135 140
 Thr Val Phe Asp Val Tyr Tyr Phe Tyr Phe Asn Gly Tyr Ala Asp Asp
 145 150 155 160
 Ile Asp Ala Gly Ser Asp Gln Ile Gln Leu Pro Asn Leu Pro Gln Leu
 165 170 175
 Ser Lys Gln Asp Leu Pro Ser Phe Leu Leu Pro Ser Ser Pro Ala Arg
 180 185 190
 Phe Arg Thr Leu Met Lys Glu Lys Phe Asp Thr Leu Asp Lys Glu Pro
 195 200 205
 Lys Ala Lys Val Leu Ile Asn Thr Phe Asp Ala Leu Glu Thr Glu Gln
 210 215 220
 Leu Lys Ala Ile Asp Arg Tyr Glu Leu Ile Ser Ile Gly Pro Leu Ile
 225 230 235 240

Pro Ser Ser Ile Phe Ser Asp Gly Asn Asp Pro Ser Ser Ser Asn Lys
 245 250 255
 Ser Tyr Gly Gly Asp Leu Phe Arg Lys Ala Asp Glu Thr Tyr Met Asp
 260 265 270
 Trp Leu Asn Ser Lys Pro Glu Ser Ser Val Val Tyr Val Ser Phe Gly
 275 280 285
 Ser Leu Leu Arg Leu Pro Lys Pro Gln Met Glu Glu Ile Ala Ile Gly
 290 295 300
 Leu Ser Asp Thr Lys Ser Pro Val Leu Trp Val Ile Arg Arg Asn Glu
 305 310 315 320
 Glu Gly Asp Glu Gln Glu Gln Ala Glu Glu Glu Glu Lys Leu Leu Ser
 325 330 335
 Phe Phe Asp Arg His Gly Thr Glu Arg Leu Gly Lys Ile Val Thr Trp
 340 345 350
 Cys Ser Gln Leu Asp Val Leu Thr His Lys Ser Val Gly Cys Phe Val
 355 360 365
 Thr His Cys Gly Trp Asn Ser Ala Ile Glu Ser Leu Ala Cys Gly Val
 370 375 380
 Pro Val Val Cys Phe Pro Gln Trp Phe Asp Gln Gly Thr Asn Ala Lys
 385 390 395 400
 Met Ile Glu Asp Val Trp Arg Ser Gly Val Arg Val Arg Val Asn Glu
 405 410 415
 Glu Gly Gly Val Val Asp Arg Arg Glu Ile Lys Arg Cys Val Ser Glu
 420 425 430
 Val Ile Lys Ser Arg Glu Leu Arg Glu Ser Ala Met Met Trp Lys Gly
 435 440 445

Leu Ala Lys Glu Ala Met Asp Glu Glu Arg Gly Ser Ser Met Asn Asn

450

455

460

Leu Lys Asn Phe Ile Thr Arg Ile Ile Asn Glu Asn Ala Ser

465

470

475

478

< 2 1 0 > 1 1

< 2 1 1 > 3 3 5

< 2 1 2 > P R T

< 2 1 3 > *Perilla frutescens*

< 4 0 0 > 1 1

Met Ser Ser Ser Ser Ser Arg Arg Trp Arg Glu Asn Glu Gly Met Arg

1

5

10

15

Arg Thr Leu Leu Gly Leu Gly Leu Gly Gln Leu Val Ser Phe Asp Leu

20

25

30

Ala Ile Met Thr Phe Ser Ala Ser Leu Val Ser Thr Thr Val Asp Ala

35

40

45

Pro Leu Thr Met Ser Phe Thr Thr Tyr Thr Val Val Ala Leu Leu Tyr

50

55

60

Gly Thr Ile Leu Leu Tyr Arg Arg His Lys Phe Leu Val Pro Trp Tyr

65

70

75

80

Trp Tyr Ala Leu Leu Gly Phe Val Asp Val His Gly Asn Tyr Leu Val

85

90

95

Asn Lys Ala Phe Glu Leu Thr Ser Ile Thr Ser Val Ser Ile Leu Asp

100

105

110

Cys Trp Thr Ile Val Trp Ser Ile Ile Phe Thr Trp Met Phe Leu Gly

115

120

125

Thr Lys Tyr Ser Val Tyr Gln Phe Val Gly Ala Ala Ile Cys Val Gly

130

135

140

Gly Leu Leu Leu Val Leu Leu Ser Asp Ser Gly Val Thr Ala Ala Gly
 145 150 155 160
 Ser Asn Pro Leu Leu Gly Asp Phe Leu Val Ile Thr Gly Ser Ile Leu
 165 170 175
 Phe Thr Leu Ser Thr Val Gly Gln Glu Tyr Cys Val Lys Arg Lys Asp
 180 185 190
 Arg Ile Glu Val Val Ala Met Ile Gly Val Phe Gly Met Leu Ile Ser
 195 200 205
 Ala Thr Glu Ile Thr Val Leu Glu Arg Asn Ala Leu Ser Ser Met Gln
 210 215 220
 Trp Ser Thr Gly Leu Leu Ala Ala Tyr Val Val Tyr Ala Leu Ser Ser
 225 230 235 240
 Phe Leu Phe Cys Thr Leu Thr Pro Phe Leu Leu Lys Met Ser Gly Ala
 245 250 255
 Ala Phe Phe Asn Leu Ser Met Leu Thr Ser Asp Met Trp Ala Val Ala
 260 265 270
 Ile Arg Thr Phe Ile Tyr Asn Gln Glu Val Asp Trp Leu Tyr Tyr Leu
 275 280 285
 Ala Phe Cys Leu Val Val Val Gly Ile Phe Ile Tyr Thr Lys Thr Glu
 290 295 300
 Lys Asp Pro Asn Asn Thr Arg Ala Leu Glu Asn Gly Asn Leu Asp His
 305 310 315 320
 Glu Tyr Ser Leu Leu Glu Asp Gln Asp Asp Thr Pro Arg Lys Pro
 325 330 335

 < 2 1 0 > 1 2
 < 2 1 1 > 4 6 8
 < 2 1 2 > P R T

< 2 1 3 > Petunia hybrida

< 4 0 0 > 1 2

Met Val Gln Pro His Val Ile Leu Thr Thr Phe Pro Ala Gln Gly His

1 5 10 15

Ile Asn Pro Ala Leu Gln Phe Ala Lys Asn Leu Val Lys Met Gly Ile

20 25 30

Glu Val Thr Phe Ser Thr Ser Ile Tyr Ala Gln Ser Arg Met Asp Glu

35 40 45

Lys Ser Ile Leu Asn Ala Pro Lys Gly Leu Asn Phe Ile Pro Phe Ser

50 55 60

Asp Gly Phe Asp Glu Gly Phe Asp His Ser Lys Asp Pro Val Phe Tyr

65 70 75 80

Met Ser Gln Leu Arg Lys Cys Gly Ser Glu Thr Val Lys Lys Ile Ile

85 90 95

Leu Thr Cys Ser Glu Asn Gly Gln Pro Ile Thr Cys Leu Leu Tyr Ser

100 105 110

Ile Phe Leu Pro Trp Ala Ala Glu Val Ala Arg Glu Val His Ile Pro

115 120 125

Ser Ala Leu Leu Trp Ser Gln Pro Ala Thr Ile Leu Asp Ile Tyr Tyr

130 135 140

Phe Asn Phe His Gly Tyr Glu Lys Ala Met Ala Asn Glu Ser Asn Asp

145 150 155 160

Pro Asn Trp Ser Ile Gln Leu Pro Gly Leu Pro Leu Leu Glu Thr Arg

165 170 175

Asp Leu Pro Ser Phe Leu Leu Pro Tyr Gly Ala Lys Gly Ser Leu Arg

180 185 190

Val Ala Leu Pro Pro Phe Lys Glu Leu Ile Asp Thr Leu Asp Ala Glu
 195 200 205
 Thr Thr Pro Lys Ile Leu Val Asn Thr Phe Asp Glu Leu Glu Pro Glu
 210 215 220
 Ala Leu Asn Ala Ile Glu Gly Tyr Lys Phe Tyr Gly Ile Gly Pro Leu
 225 230 235 240
 Ile Pro Ser Ala Phe Leu Gly Gly Asn Asp Pro Leu Asp Ala Ser Phe
 245 250 255
 Gly Gly Asp Leu Phe Gln Asn Ser Asn Asp Tyr Met Glu Trp Leu Asn
 260 265 270
 Ser Lys Pro Asn Ser Ser Val Val Tyr Ile Ser Phe Gly Ser Leu Met
 275 280 285
 Asn Pro Ser Ile Ser Gln Met Glu Glu Ile Ser Lys Gly Leu Ile Asp
 290 295 300
 Ile Gly Arg Pro Phe Leu Trp Val Ile Lys Glu Asn Glu Lys Gly Lys
 305 310 315 320
 Glu Glu Glu Asn Lys Lys Leu Gly Cys Ile Glu Glu Leu Glu Lys Ile
 325 330 335
 Gly Lys Ile Val Pro Trp Cys Ser Gln Leu Glu Val Leu Lys His Pro
 340 345 350
 Ser Leu Gly Cys Phe Val Ser His Cys Gly Trp Asn Ser Ala Leu Glu
 355 360 365
 Ser Leu Ala Cys Gly Val Pro Val Val Ala Phe Pro Gln Trp Thr Asp
 370 375 380
 Gln Met Thr Asn Ala Lys Gln Val Glu Asp Val Trp Lys Ser Gly Val
 385 390 395 400

Arg Val Arg Ile Asn Glu Asp Gly Val Val Glu Ser Glu Glu Ile Lys

405

410

415

Arg Cys Ile Glu Leu Val Met Asp Gly Gly Glu Lys Gly Glu Glu Leu

420

425

430

Arg Lys Asn Ala Lys Lys Trp Lys Glu Leu Ala Arg Glu Ala Val Lys

435

440

445

Glu Gly Gly Ser Ser His Lys Asn Leu Lys Ala Phe Ile Asp Asp Val

450

455

460

Ala Lys Gly Phe

465

468

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP98/03199

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁶ C12N15/54, C12N9/10, A01H1/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁶ C12N15/54, C12N9/10, A01H1/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

SwissProt/PIR/GeneSeq

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|-----------|---|-----------------------|
| A | EP, 771878, A1 (PLANT GENETIC SYSTEMS NV), 7 May, 1997 (07. 05. 97) & WO, 97/16559, A1 | 1-11 |
| A | Science. Vol. 265 (1994) Szerszen, J.B et al., "iaglu, a gene from Zea mays involeved in conjugation of growth hormone indole-3-acetic acid." p.1699-1701 | 1-11 |
| A | WO, 96/00291, A1 (RESEARCH CORP TECHNOLOGIES INC.), 4 January, 1996 (04. 01. 96) | 1-11 |

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.
 ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
18 September, 1998 (18. 09. 98)Date of mailing of the international search report
29 September, 1998 (29. 09. 98)Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))
Int.Cl⁶ C12N15/54, C12N9/10, A01H1/00

B. 調査を行った分野
調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))
Int.Cl⁶ C12N15/54, C12N9/10, A01H1/00

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で利用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)
SwissProt/PIR/GeneSeq

C. 関連すると認められる文献

| 引用文献の カテゴリー* | 引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示 | 関連する 請求の範囲の番号 |
|-----------------|--|------------------|
| A | EP, 771878, A1 (PLANT GENETIC SYSTEMS NV) 7.5月. 1997 (07.05.97) & WO, 97/16559, A1 | 1-11 |
| A | Science, vol. 265 (1994) Szerszen, J. B et al. 「iaglu, a gene from Zea mays involeved in conjugation of growth hormone indole-3-acetic acid.」 p. 1699-1701 | 1-11 |
| A | WO, 96/00291, A1 (RESEARCH CORP TECHNOLOGIES INC.) 4.1月. 1996 (04.01.96) | 1-11 |

☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」 先行文献ではあるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献
「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日
18.09.98

国際調査報告の発送日
29.09.98

国際調査機関の名称及びあて先
日本国特許庁 (ISA/J P)
郵便番号 100-8915
東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)
新見 浩一
印
4B 9162
電話番号 03-3581-1101 内線 3448